

Université de Sherbrooke

**L'activation de caspases dans le bulbe olfactif et l'altération de la neurogenèse
observée dans des modèles de rongeurs de la
maladie de Huntington**

Par
Mélissa Laroche
Programme de physiologie

Mémoire présenté(e) à la Faculté de médecine et des sciences de la santé
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)
en physiologie

Sherbrooke, Québec, Canada
Février, 2017

Membres du jury d'évaluation
Rona Graham, programme de physiologie
Mélanie Plourde, programme de physiologie
Kevin Whittingstall, programme de radiologie diagnostique

© Mélissa Laroche, 2017

*À mes parents, Thérèse et Jean-Paul, pour leurs soutiens et
à tous ceux qui ont cru en moi*

à cœur vaillant, rien d'impossible

*« Nous sommes ce que nous répétons chaque jour.
L'excellence n'est alors plus un acte, mais une habitude. »
-Aristote*

RÉSUMÉ

L'activation de caspases dans le bulbe olfactif et l'altération de la neurogenèse observée dans des modèles de rongeurs de la maladie de Huntington

Par

Mélissa Laroche

Programmes de physiologie

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Une dysfonction olfactive et une altération de la neurogenèse sont observées dans plusieurs maladies neurodégénératives, y compris la maladie de Huntington (MH). Ce déficit est un symptôme précoce de la MH et est en corrélation avec le déclin de la performance cognitive globale, la dépression et la dégénérescence des régions olfactives dans le cerveau. La dysfonction olfactive dans les maladies neurodégénératives est souvent accompagnée par des anomalies structurelles de l'épithélium olfactif, du bulbe olfactif (BO) et du cortex olfactif chez l'humain. En dépit de preuves claires démontrant la dysfonction olfactive chez les patients de la MH l'information disponible est limitée dans des modèles murins et les mécanismes sous-jacents ne sont pas connus. Une diminution du volume et du compte neuronale dans le PC est observée dans les souris YAC128 vs le type sauvage (WT) âgée (12 mois). Nous avons également examiné les comportements lors d'exposition à des odeurs sociales et non sociales chez des souris en utilisant le test habituation. Une habituation aux odeurs tend à être observé dans les souris YAC128 de 1 mois vs WT se traduisant par une tendance de l'augmentation de la durée d'exploration des YAC128 vs WT lors de leurs 2^e et 3^e expositions à une odeur. Dans les couches glomérulaire et plexiforme externe, l'intensité réciproque du marquage de TH et de GFAP, marqueur de cellules gliales présente une tendance pour une augmentation dans les YAC128 comparativement au WT. Une tendance pour une diminution de Iba-1, marqueur de neuroinflammation, a aussi été observé dans la couche granulaire du BO de YAC128 âgée vs WT. Malgré une diminution de l'expression en ARNm de caspase-3 et -8, une augmentation de l'expression protéique de la proforme de caspase-8 et des formes actives de la caspase-8, -6 et -9 a été observés au stade présymptomatique dans des BO de YAC128 vs WT. De façon similaire aux YAC128, une atrophie du BO à 6 mois est remarqué dans le modèle de rat BACHD (lignées TG5 et TG9). Globalement, un niveau d'expression de la protéine huntington mutante (h^{ttm}) est plus élevé dans les TG5. L'expression protéique dans les BO de la proforme des caspase-3, -6 et -8 sont supérieurs dans les TG9 lorsque comparés au TG5 et au WT. L'identification de marqueurs précoces pour la MH contribuera aux approches thérapeutiques et permettra de clarifier l'utilité des tests de la fonction olfactive dans les individus à risques de la MH.

Mots clés : Olfaction, neurogenèse, YAC128, BACHD, bulbe olfactif, caspases, apoptose, maladie de Huntington

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	iv
Table des matières.....	vi
Liste des figures	ix
Liste des tableaux.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Introduction	1
La maladie de Huntington.....	1
Génétique et pénétrance de la maladie.....	2
Évolution de la maladie	3
Neuropathologie.....	5
Volume cérébral	7
La protéine huntingtine.....	9
Rôles et fonctions cellulaire de la htt.....	9
Transport intracellulaire (vésiculaire).....	10
Régulation de la transcription.....	12
Inhibition de la mort cellulaire programmée (apoptose)	13
Modèles de rongeurs de la MH	14
Le système olfactif	18
Caractéristiques uniques des voies olfactives.....	19
Cellules de tufteds et mitrales.....	20
Interneurones dans le bulbe olfactif	22
Généralité et particularité du cortex olfactif	23
La neurogenèse à l'âge adulte.....	24
L'apoptose et la neurogenèse à l'âge adulte.....	27
Olfaction dans la maladie de Huntington	28
Hypothèse/problématique.....	31
Objectifs	31
Matériel et méthodes	32
Animaux	32
Immunobuvadage de type Western Blot.....	32

Quantification de PCR en temps réel	33
Analyse d'immunohistochimie	34
Tests olfactifs.....	36
Test de la nourriture enfouie	36
Test olfaction de l'habituation ou non à une odeur	36
Volume et compte neuronaux	37
Analyses statistiques	38
Résultats	39
Mesure du bulbe olfactif, du cortex piriforme et du tubercule olfactif des YAC128 ...	39
Effet de l'âge sur le poids de bulbe olfactif de souris modèle de la MH.....	39
Diminution du volume et du compte neuronaux dans le cortex piriforme de YAC128....	40
Augmentation du temps de latence des YAC128 pour l'habituation à une odeur	41
Investigation du dérèglement olfactif de YAC128 à 1 mois	44
Figure 5. Diminution de la capacité olfactive des YAC128 de 1 mois.....	44
Neurogenèse au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128.....	45
Neuroinflammation au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128	48
Profil des niveaux d'expression de caspases dans le bulbe olfactif de YAC128	51
Altération hâtive de l'expression de la caspase-3, dans le BO de souris YAC128	51
Hausse de l'expression de caspases : Caspase-8, -9 et caspase-6	51
Mesure du bulbes olfactifs, du cortex piriforme et du tubercule olfactif des BACHD.55	
Diminution du poids des bulbes olfactifs de BACHD rat	56
Diminution du volume du cortex piriforme à 12 mois de BACHD souris.....	56
Augmentation de l'expression de certaines caspases initiatrices au stade	
présymptomatique dans le modèle de rat BACHD.....	57
Discussion	61
La répercussion des maladies neurodégénératives sur les mesures du BO	62
Dérégulation neuroanatomique du bulbe olfactif dans la MH	62
Le développement du BO est influencé par htt	62
Atrophie du cortex piriforme dans les modèles de souris de la MH	64
Investigation des capacités olfactifs des YAC128 présymptomatique	67
Neurogenèse au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128	68
Neuroinflammation au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128	74
Niveaux d'expression des caspases en ARNm et en protéines dans la MH	77

Caspase-3.....	78
Caspase-8 :	79
Caspase-6.....	80
Caspase-9.....	83
Conclusion	85
Perceptives.....	86
Forces et limites de l'étude.....	87
Remerciement.....	88
Annexes.....	89
Tableau supplémentaire	89
Figures supplémentaires	90
Autorisation de l'éditeur pour les droits d'auteurs.....	92
Figure 1 de mon mémoire	92
Tableau 1 de mon mémoire	95
Figure 2, 3 de mon mémoire.....	96
Liste des références.....	97

LISTE DES FIGURES

Figure 1. La progression clinique de la MH	4
Figure 2. Structure du circuit du bulbe olfactif.....	20
Figure 3 Schématisation des projections axonales des cellules mitrales et de tufteds dans le cortex olfactif.	22
Figure 4. Diminution du volume et du compte neuronales dans le cortex piriforme des YAC128	41
Figure 5. Diminution de la capacité olfactive des YAC128 de 1 mois	44
Figure 6. Altération de marqueur de la neurogenèse du modèle de souris de la MH, YAC128	48
Figure 7. Augmentation de marqueurs de la neuroinflammation au stade postsymptomatique de YAC128	50
Figure 8. Diminution des niveaux expressions en ARNm, mais augmentation des niveaux d'expressions protéiques de caspases dans le BO de souris YAC128 présymptomatique.	53
Figure 9. Augmentation des caspases actives et des niveaux d'expression protéiques des substrats clivés par les caspases dans le bulbe olfactif de souris YAC128 postsymptomatique.	55
Figure 10. Altération du système olfactif dans le modèle de la MH, BACHD de rat	57
Figure 11. Variation de l'expression des caspases dans le bulbe olfactif de rat BACHD	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les modèles de souris les plus communément utilisés pour l'étude de la MH ..	15
Tableau 2. Amorce sens et antisens utilisés pour cet étude	34
Tableau 3. Anticorps primaire utilisés en immunohistochimie	35

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
BACHD	Animal transgénique issu d'un chromosome artificiel de bactérie mimant la maladie de Huntington
BDNF	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BO	Bulbe olfactif
BSA	Sérum d'albumine de bovin
DAB	3,3'-diaminobenzidine
Dcx	Double cortine
EPL	Couche plexiforme externe
GC	Cellules granulaires
GFAP	Protéine Acide Fibrillaire Gliale
GL	Couche glomérulaire
GPC	Cellules périglomérulaire
HTT	Le gène de huntingtine
htt	La protéine de huntingtine
HTTm	Le gène de huntingtine mutante
htm	La protéine de huntingtine mutante
IHC	Immunohistochimie
LEA	Cortex entorhinal
MH	Maladie de Huntington
mM	milliMolaire
NES	Signal de localisation nucléaire
NGS	Sérum normal de chèvre
NLS	Signal de l'export nucléaire
NRSF	Facteur restrictif de silençage neuronale
OE	Épithélium olfactif
OSN	Neurone sensitif olfactif
OT	Tubercule olfactif
PBS	Solution saline tamponnée au phosphate
PC	Cortex piriforme
REST	Répresseur de transcription de l'élément 1
RMS	Flux rostral migratoire
SVZ	Zone subventriculaire

TH	Thyrosine Hydroxylase
TX-100	Triton X-100 ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ ($n = 9-10$))
um	Micromètre
WT	Contrôle, type sauvage (Wild type)
YAC	Animal transgénique issu d'un chromosome artificiel de levure mimant la maladie de Huntington

INTRODUCTION

La maladie de Huntington

La maladie de Huntington (MH) est un trouble neurologique invalidant. Elle a été décrite en détail par George Huntington en 1872. Dès 1840, cette maladie était décrite comme une maladie chronique et héréditaire de type chorée. Les symptômes répertoriés étaient les mêmes à travers le monde soit des mouvements involontaires et une perturbation mentale héritée de ses parents (Huntington, G., 1872).

La MH est un trouble neurologique monogénique fréquent dans les populations développées (Morrison *et al.*, 2011, Fisher & Hayden, 2014, Evans *et al.*, 2013). La MH est l'une des rares maladies neurodégénératives dans laquelle une association étroite est faite entre sa nature génétique et sa causalité. Cette maladie héréditaire, autosomale dominante, présente généralement ses signes et symptômes, entre 40 et 50 ans, lorsque le sujet est dans la fleur de l'âge adulte.

Les signes et symptômes de la MH se présente de façon progressive et regroupe des troubles moteurs, cognitifs et comportementaux. Les caractéristiques cliniques de MH sont une combinaison de désordres neurologiques et psychiatriques. La progression varie d'une personne à l'autre même au sein d'une même famille. Les symptômes psychiatriques tels que l'irritabilité, la dépression, l'anxiété et l'agressivité représentent quelques-uns des premiers signes de déficience fonctionnelle (Burns *et al.*, 1990, Cummings, 1995). Des mouvements oculaires anormaux sont également détectés tôt au cours de la maladie (Kremer *et al.*, 1992, Lasker & Zee, 1997, *Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Huntington Study Group*, 1996). L'apparition d'un dysfonctionnement moteur se présente sous forme de troubles de la coordination, des difficultés de prononciation et d'articulation, de l'équilibre et de la marche. Le symptôme classique de la définition MH est la chorée, qui se réfère à un trouble du mouvement caractéristique et particulier. La chorée commence subtilement et progresse vers un mouvement de « danse » saccadée. Au fil de la progression de la chorée, cette « danse » implique l'ensemble du corps, pour que finalement les

mouvements choréiques soient remplacés par la dystonie, la bradykinésie et la rigidité musculaire (figure 1). Les déficiences cognitives comprennent un déficit de la mémoire à court terme, des difficultés dans l'élaboration de stratégies, de la concentration et du langage (Lawrence *et al.*, 1998, Watkins *et al.*, 2000, Bachoud-Levi *et al.*, 2001). Le taux de progression du déclin cognitif peut aussi varier sensiblement entre les patients de la MH (Gusella, 1991).

Environ 10% des cas de MH commencent avant l'âge de 20 ans et sont appelés MH juvénile (Hayden *et al.*, 1985, Foroud *et al.*, 1999). La forme juvénile a été décrite comme davantage parkinsonienne dans sa nature avec des caractéristiques proéminentes telles : la bradykinésie, la rigidité, les tremblements et l'épilepsie (van Dijk *et al.*, 1986).

Dans cette maladie létale, les patients décèdent généralement de pneumonie, de malnutrition et/ou de crise cardiaque, et ce, environ 15 ans après le diagnostic clinique. La MH est exceptionnellement dévastatrice pour les patients et leurs familles, car elle affecte considérable leur qualité de vie ainsi que leur dignité.

Génétique et pénétrance de la maladie

La MH est causée par une répétition élargie de trinuéclotide CAG dans le gène HTT (MacDonald *et al.*, 1993). La répétition de trinuéclotide CAG dans le gène HTT permet de faire des tests génétiques prédictifs et diagnostic, elle identifie l'origine pathogène, une forme mutante de la protéine huntingtine (htt) (Bates *et al.*, 2015). Le gène Huntingtine mutant (HTTm) contient un enchainement anormalement long de polyglutamine qui correspond à l'expansion génétique CAG. Cet élongation présente des propriétés toxiques causant le dysfonctionnement et la mort des neurones. Les neurones épineux moyens du striatum sont particulièrement vulnérables aux dommages induits par le HTTm. La MH est de plus en plus reconnue comme une maladie qui affecte l'ensemble du cerveau et du corps, car la protéine huntingtine normale (htt) a des fonctions essentielles au bon fonctionnement et maintien du corps (Patassini *et al.*, 2015).

La pénétrance de la MH correspond à l'âge et à l'intensité auquel les gens manifesteront les signes et symptômes typiques de cette maladie. La pénétrance est en étroite relation avec le

nombre de répétitions CAG présent dans la htt (Tabrizi *et al.*, 2009, Delatycki & Bandmann, 2016). Les individus qui ne développeront pas la MH possèdent entre 7 à 35 répétitions de trinuéotide CAG. Les individus qui possède entre 36 à 40 répétitions glutamines sont dits avec une pénétrance incomplète ou partiel, car ces individus développeront les signes et symptômes de la maladie à un âge plus avancé que la moyenne des gens affectée par la MH et donc il est possible que ces individus décèdent avant le diagnostique de la MH. La pénétrance de la MH est complète lorsque l'extension des répétitions est supérieure à 39 trinuéotide CAG chez l'individu. Dans cette situation, les individus développent la maladie selon le modèle présenté à la figure 1. Il est important de spécifier que plus le nombre de répétitions du trinuéotide CAG est élevé et plus l'individu développera la maladie hâtivement et présentera des signes et symptômes aigus de la maladie (Delatycki & Bandmann, 2016, Andrew *et al.*, 1993). De plus, tel que mentionné plus haut, une forme juvénile de la MH existe et subvient lorsqu'un individu a plus de 60 répétitions du trinuéotide CAG cet individu développera alors fort probablement la MH avant l'âge de 21 ans (Andrew *et al.*, 1993).

Évolution de la maladie

Après une période variable « présymptomatique », subvient une phase prodromique, caractérisée par de subtils changements du comportement, de la motricité et de la cognition. Ces changements subtils et progressifs associés à des bouleversements de la motricité, des facultés cognitives et du comportement précèdent jusqu'à 15 ans le diagnostic formel de la MH (figure 1) (Bates *et al.*, 2015). Une fois les signes et les symptômes commencés, ils progressent inexorablement. Ils progressent au fil de la maladie. La MH est toujours fatale à l'exception des cas d'apparition tardive, où le patient risque de mourir d'autres causes, la médiane de survie des symptômes moteurs font leur apparition vers 18 ans (Ross *et al.*, 2014). À l'heure actuelle, aucun traitement ne peut prévenir ou ralentir la MH, la prise en charge clinique des patients se concentre sur l'évaluation des experts et de la prise en charge multidisciplinaire des symptômes, à travers le milieu médical et non médical, axé sur la fonctionnalité et la qualité de la vie du patient. Bien que cette maladie soit incurable, la MH n'est pas non traitable. Des études intensives ont produit d'importantes idées dans la pathophysiologie de la MH et ont généré une multitude d'objectifs rationnels pour le développement thérapeutique. Les essais humains sont maintenant prévus où en cours. Plus

particulièrement, le « silençage génique » ou « agent diminuant la huntingtine » vise à diminuer la production de la protéine httm. Ces essais seront pris en charge pour l'élaboration de nouveaux biomarqueurs et permettent ainsi de développer et qualifier des essais cliniques systématiques. En plus, la certitude génétique de la MH lui permet de servir de modèle pour l'étude des mécanismes communs et développement thérapeutique dans les maladies neurodégénératives.

Récemment, un déficit olfactif au stade prodromique a été répertorié dans la MH (Delmaire *et al.*, 2013, Tabrizi *et al.*, 2009). Il est intéressant de souligner qu'un déclin olfactif à un stade similaire a aussi été observé dans d'autres maladies neurodégénératives telles : la maladie d'Alzheimer et le Parkinson (Mesholam *et al.*, 1998, Doorn *et al.*, 2014, Serby, 1986, Doty *et al.*, 1988).

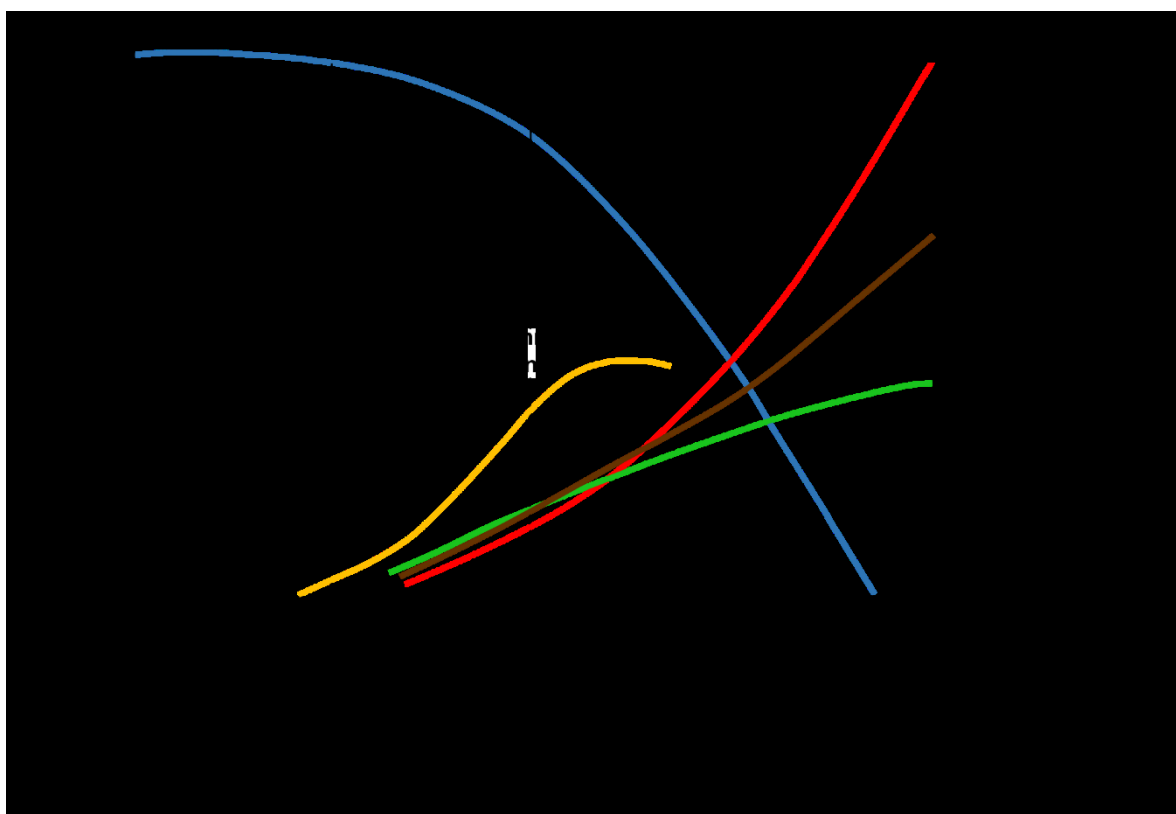


Figure 1. La progression clinique de la MH

La normalisation par le score CAP permet une prédiction de la progression de la MH au stade prodrome de plusieurs individus possédant différentes longueurs d'expansion CAG. Le score CAP moyen est fixé à ~100, typiquement attend à 45 ans, pour le diagnostic clinique

de la maladie. Mais il est important de mentionner qu'il existe des variances substantielles entre les individus. La période précédant la manifestation des signes et symptômes servant au diagnostic de la MH porte le terme prémanifestation. Durant la période présymptomatique, aucun signe ou symptôme ne sont présents. Durant la période prodrome de la MH, de subtils signes et symptômes font leurs apparitions. La manifestation de la MH est caractérisée la progression lente des difficultés du système moteur et cognitif rencontré, tel la chorée est souvent proéminente au stade prodromique, mais la chorée atteint un plateau ou même diminue plus tard dans la progression de la maladie. Par contre, le dysfonctionnement de la motricité fine (incoordination, bradykinésie et rigidité) tend à s'accroître au cours de la progression de la maladie.

Figure 1 adaptée de Bates et al., 2015 et inspirée de Ross et al., 2011.

Neuropathologie

L'une des principales caractéristiques pathologiques de la MH est associée au dysfonctionnement progressif et à la dégénérescence des neurones (épineuses moyennes) du striatum principalement (Vonsattel et al., 1985), et de certaines structures à l'intérieur des noyaux gris centraux, incluant le noyau caudé et le putamen. Les noyaux gris centraux comprennent également le globus pallidus et l'amygdale et possèdent de nombreux neurones profondément enfouis dans les hémisphères cérébraux. Ces neurones font en grande partie leur entrée par l'intermédiaire du cortex (fibres cortico-striatale). L'information est ensuite traitée et transmise au pallidum (fibres striato-pallidale). Finalement, ces neurones font leur sortie par le thalamus au cortex cérébral. Ainsi, les noyaux gris centraux agissent comme un sous-type de boucle du système moteur en modifiant l'activité corticale. Les noyaux gris centraux sont impliqués dans le contrôle des motifs complexes de l'activité motrice, y compris l'initiation et la qualité du mouvement ainsi qu'au niveau de l'influence des aspects cognitifs de commande motrice (Albin & Gilman, 1989, Albin *et al.*, 1989). Chez les individus normaux, les neurones de projections inhibiteurs du travail du striatum peuvent inhiber les signaux excitateurs en provenance du cortex moteur. L'anomalie engendrée au niveau du ganglion de la base en cas de dysfonctionnement moteur incluant la chorée, les tremblements et de la dyskinésie (Albin & Gilman, 1989, Albin *et al.*, 1989, Marsden, 1982). Ces symptômes font leur apparition chez les patients de la MH tant adultes que juvéniles (Hayden *et al.*, 1985, Beighton & Hayden, 1981).

L'atrophie du noyau caudé et du putamen se fait progressivement dans la MH et commence avant l'apparition de la chorée (Aylward *et al.*, 1994, Aylward *et al.*, 1996). La dégénérescence du striatum se produit dans une distribution ordonnée et topographique avec la queue du noyau caudé qui démontre la dégénérescence la plus importante et la partie caudale du putamen qui est plus impliqué que la partie rostral (Vonsattel *et al.*, 1985). Lorsque la maladie progresse, les mouvements de dégénérescence du striatum se font dans une direction caudo-rostral et dorso-ventral / médio-latérale et est accompagnée par l'élargissement des ventricules latéraux. Il y a 5 niveaux de classement. Au niveau 0 n'a pas de pathologie, plus la maladie progresse et plus le niveau du classement augmente, un classement 4 équivaut à une atrophie sévère du striatum et une atrophie corticale.

Au stade présymptomatique de la MH, il est possible d'observer par l'imagerie fonctionnelle une diminution de certains volumes cérébraux tels que dans le ganglion de la base, le cortex et la matière blanche chez les patients atteints de la MH lorsque comparé aux patients sains ce qui suggère des changements dans les connexions structurelles au niveau du ganglion de la base et du cortex (Novak *et al.*, 2015).

La neuropathologie dans la MH est sélective au striatum et elle est affinée aux types neuronaux qui constituent la population neuronale du striatum. Le neurotransmetteur l'acide gamma-amino-butyrique (GABA) qui régule l'activité des neurones épineux moyens du striatum, représentent 90% de la population neuronale du striatum (Ferrante *et al.*, 1985). Il existe donc dans la MH une sensibilité préférentielle pour ce type de neurones comparativement à de nombreux autres types de grands interneurons restant largement épargnés (Perry *et al.*, 1973, Beal *et al.*, 1988, Young *et al.*, 1988).

L'excitotoxicité, le stress oxydatif, le métabolisme énergétique et l'apoptose sont des mécanismes ayant été proposés pour caractériser la mort neuronale sélective présente dans la MH (Bates *et al.*, 2015, Zuccato *et al.*, 2010). L'hypothèse d'excitotoxicité suggère une sursimulation des récepteurs du glutamate, en particulier les récepteurs NMDA entraînant une augmentation de la libération de Ca^{2+} dans la cellule, ce qui déclencherait une surcharge calcique cytosolique sous-jacente à l'activation des caspases, la dysfonction mitochondriale

et la mort cellulaire par apoptose (Graham *et al.*, 2011). L'hypothèse mitochondriale sous-tend à des anomalies du métabolisme mitochondrial qui provoquerait une déplétion chronique d'ATP cellulaire ainsi qu'une diminution du seuil requis pour engendrer l'apoptose (Zuccato *et al.*, 2010).

Volume cérébral

La mesure de volume cérébrale permet la quantification de régions spécifiques affectées à des fins de comparaison. Le striatum des rongeurs incluant le noyau caudé, le putamen, le noyau accumbens et le tubercule olfactif (OT), ont des fonctionnalités comparables aux humains (Brooks & Dunnett, 2015). L'étude fait sur les modèles de rongeurs en comparaison aux humains permet d'approfondir les connaissances de l'histoire naturelle et de la pathogenèse de la maladie de Huntington (MH). Le modèle de souris YAC128 récapitule avec précision plusieurs signes et symptômes de la MH observé chez l'humain. Il y aurait une perte de volume spécifique du striatum observé dans les YAC128 et chez les humains affectés par la MH (Hobbs *et al.*, 2009, Hobbs *et al.*, 2010, Slow *et al.*, 2003, Graham *et al.*, 2006, Carroll *et al.*, 2011). Un autre parallèle qui peut être fait entre les patients de la MH et le modèle murin de la MH, les YAC128, est l'atrophie corticale spécifique à certaines couches corticales. Par exemple, le cortex moteur primaire d'un patient de la MH possède un amincissement cortical qui est associé avec la perte spécifique de neurones de projections particulièrement dans les zones corticales spécifiques des couches de projection III et V/VI. Dans le modèle murin de la MH, YAC128, lorsqu'un dénombrement de neurones matures avec le marqueur NeuN est réalisé chez les souris de 3 mois, il y a un nombre équivalent de neurones matures dans les couches II/III et les couches V/VI de neurones de projection, lorsque comparées au WT. Cependant, lorsque les YAC128 atteignent 12 mois, il y a diminution du nombre de neurones matures dans les YAC128 comparativement aux WT entre les couches II/III et V/VI des neurones de projections (Carroll *et al.*, 2011). Donc, dans le modèle murin YAC128, il y aurait une perte progressive de neurones mimant celles observées chez le patient de la MH.

Les volumes des structures cérébrales des YAC128 qui semblent être le plus discriminé une fois normalisé sont au niveau de la matière grise sous-corticale : le striatum, le globus pallidus et le thalamus et au niveau cérébral de la matière blanche : la fimbria, le corpus

callosum et la commissure antérieure. Ces structures sont une excellente représentation des études similaires faites chez l'humain, car il y a correspondance des aires et des régions recensées qui sont affectées hâtivement chez l'humain (Rosas *et al.*, 2003, Carroll *et al.*, 2011).

Selon l'étude de Carroll, Lerch et collaborateurs en 2011, chez le modèle de souris de la MH, YAC128, l'hippocampe est généralement plus petit chez ces derniers que dans les WT mais son volume demeure inchangé au cours du vieillissement. Certaines autres structures sont similaires à l'hippocampe et ne subissent pas de variation significative de leur volume lors du vieillissement dans les YAC128, tel : l'hypothalamus, la médulla, les bulbes olfactifs (BO) et l'amygdale. Ce constat renforce l'hypothèse de la vulnérabilité du striatum associé à la pathologie tissulaire relative à l'atrophie observé dans la MH.

Il y a d'autres modèles de la MH (tableau 1), le choix du modèle YAC128 repose sur la validité de construction et de la représentativité du modèle. Les YAC128 est l'un des modèles de la MH les plus utilisés aujourd'hui. Il y a plus de 100 articles publiés basés sur ce modèle de la MH. Il a été clairement démontré que ce modèle représente autant que possible le phénotype de la MH observé chez l'homme. Les YAC128 et les BACHD ont été créés par l'insertion du gène HTTm humain pleine longueur incluant les éléments de régulation qui récapitule avec précision les signes et symptômes de la MH observé chez l'humain contrairement aux autres modèles murins qui présente une modélisation différente des signes et symptômes observé dans la MH. Les YAC128 et BACHD sont connues pour développer progressivement les symptômes moteurs, cognitifs et des troubles psychiatriques et ce en lien avec l'atrophie striatale et corticale observé. Par contre, le comportement et le phénotype neurodégénératif tend à être plus sévère dans les modèles transgéniques qui expriment la HTTm humaine que dans les lignées knock-in (Gray *et al.*, 2008a, Van Raamsdonk, Murphy, *et al.*, 2005, Pouladi *et al.*, 2013) et ce malgré une propagation de l'inclusion neuronale du fragment N-terminale intranucléaire (NIIs) plus tardive dans les YAC128 et les BACHD que dans l'ensemble des autres modèles. En plus, les YAC128 et les BACHD possèdent des caractéristiques phénotypique différentes, une neurochimie divergente et des agrégations phénotypes (Pouladi *et al.*, 2012). Les YAC128 et les BACHD n'ont pas été étudiés de

manière aussi approfondie que certains autres modèles qui manifeste plus rapidement les symptômes de la MH, incluant les symptômes moteur, cognitif, comportemental, la perte de poids et la réduction de la durée de vie. Néanmoins, les YAC128 et les BACHD depuis leur création ont suscité un vif intérêt car ils présentent un développement progressif de la déficience motrice, cognitive, psychiatrique et une atteinte précise des zones striatale et corticale. Cependant, dans les YAC128 et les BACHD, il est observé certains phénotypes qui ne sont pas observés chez les patients de la MH.

La protéine huntingtine

Chez l'humain, le gène HTT (aussi nommé IT15) contient 67 exons représentant plus de 200 Kb. Une fois traduit et transcrit la forme sauvage de la protéine huntingtine (htt) qui contient de 6 à 35 répétitions glutamine dans le domaine N-terminale de la htt sauvage ou normale comporte 350 KDa. Cependant, lorsque le nombre de répétitions glutamine encodées est supérieur à 36, la transcription de la htt est dite mutante et la protéine huntingtine mutante (httm) mènera à ce désordre pathologique nommé la MH.

Il a été observé que la htt est plus exprimée au niveau testiculaire et cérébrale (DiFiglia *et al.*, 1995, Gutekunst *et al.*, 1995). Les principales structures cérébrales où htt est plus fortement exprimée sont : le néocortex, le cervelet, le cortex, le striatum et l'hippocampe.

Rôles et fonctions cellulaires de la htt

La MH est causée par une répétition élargie de trinucléotide CAG dans le gène Huntingtine (HTT) (MacDonald *et al.*, 1993). Le gène Huntingtine mutant (HTTm) contient un enchaînement anormalement long de polyglutamine qui correspond à l'expansion génétique des trinucléotides CAG. Cette élongation des répétitions CAG traduite en protéine présente des propriétés toxiques causant le dysfonctionnement et la mort des neurones. La pénétrance de la MH est en étroite relation avec le nombre de répétitions CAG présent dans la htt (Tabrizi *et al.*, 2009, Delatycki & Bandmann, 2016). La MH est de plus en plus reconnue comme une maladie qui affecte l'ensemble du cerveau et du corps, car la protéine huntingtine normale (htt) a des fonctions essentielles au bon fonctionnement et au maintien du corps (Patassini *et al.*, 2015).

Transport intracellulaire (vésiculaire)

Les microtubules sont l'une des composantes majeures du cytosquelette de la cellule (Hudspeth *et al.*, 2013) et sont constitués d'empilements de tubuline. La tubuline s'ajoute constamment et de façon dynamique aux extrémités pour allonger ou contracter la longueur de ces structures lorsque nécessaire. Cette dynamique de croissance et la dispersion sont nécessaires pour de nombreux processus cellulaires importants, tels que la séparation des chromosomes lors de la mitose (Hudspeth *et al.*, 2013). L'interaction des microtubules avec la htt est connue pour faciliter le transport vésiculaire (Li *et al.*, 1998). Les microtubules fournissent également l'échafaudage de molécules spécialisées appelées les protéines motrices de microtubules permettant les déplacements dans le cytoplasme. Les protéines motrices peuvent être considérées comme livreurs cellulaires, se déplaçant le long des autoroutes de microtubules pour mener leur cargaison vésiculaire d'un endroit à l'autre dans la cellule (Hudspeth *et al.*, 2013). La dynéine est l'une des protéines motrices connues pour avoir une interaction avec la htt (Li *et al.*, 1998). Des études ont démontré que la séquence de la htt possède un site de liaison pour la dynéine, ce qui suggère que les deux protéines peuvent interagir à l'intérieur de la cellule. Une preuve de cette théorie a été faite dans des neurones de souris (Li *et al.*, 1998, Caviston & Holzbaur, 2009).

En plus de l'action directe de la htt, il a été proposé que ses partenaires de liaison affectent la dynamique des microtubules. Hap1 (HAP1) est un partenaire de liaison de la htt qui interagit avec dynactine. La dynactine est une protéine essentielle pour la fonction de la dynéine et la kinésine, deux protéines de motrices des microtubules (Engelender *et al.*, 1997, Hudspeth *et al.*, 2013). En effet, la htt et HAP1 sont transportés sur les axones à une vitesse compatible avec l'hypothèse selon laquelle ils se déplacent le long des microtubules avec des protéines motrices des microtubules. En outre, htt et HAP1 sont capables de se déplacer à la fois vers le noyau cellulaire et vers la périphérie, si ces protéines associent à la dynéine et la kinésine. La direction de déplacement de htt dépend des signaux reçus (Engelender *et al.*, 1997, McGuire *et al.*, 2006). Il est suggéré que la htt agit comme un échafaudage moléculaire, qui permet à diverses protéines d'interagir.

Les interactions de la htt avec les microtubules dynéines, et d'autres éléments du transport intracellulaire peuvent aider à expliquer son effet sur le trafic vésiculaire. La htt peut être observé au noyau, mais elle est majoritairement présente au cytoplasmique. La htt est étroitement impliquée dans le transport vésiculaire contenant un facteur neurotrophique, le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) (Gauthier *et al.*, 2004). La htt semble être important dans le transport intracellulaire du BDNF. Ce facteur neurotrophique est essentiel pour le développement et la survie des cellules du striatum (Gauthier *et al.*, 2004, Zuccato *et al.*, 2010). Le BDNF est initialement produit par les neurones corticaux et la substance noire. Le BDNF est ensuite déplacé vers le striatum, le site majeur de la neurodégénérescence dans la MH (Zuccato *et al.*, 2010, Borrell-Pages *et al.*, 2006). Le BDNF doit d'abord être synthétisé dans les cellules avant d'être libéré comme toutes les autres protéines sécrétées, pour ensuite être traduites, transcrites puis conditionnées dans des vésicules qui sont transportées vers la membrane cellulaire le long de microtubule. Lorsque les vésicules contenant du BDNF atteignent la membrane, ils s'accumulent dans des compartiments spécialisés jusqu'à ce qu'ils reçoivent le signal pour être libéré (Gauthier *et al.*, 2004, Zuccato *et al.*, 2010, Borrell-Pages *et al.*, 2006, Ross & Tabrizi, 2011). La htt semble être cruciale pour le transport de BDNF à partir de son site de production vers la membrane cellulaire. Des expériences in vitro dans lequel des niveaux anormalement élevés de la htt ont été exprimées dans des lignées de cellules neuronales ont permis de constater que la htt augmente la vitesse à laquelle le BDNF contenu dans les vésicules se déplace le long des microtubules (Gauthier *et al.*, 2004). Inversement, de faibles niveaux de la htt réduisent la vitesse de la vésicule (Borrell-Pages *et al.*, 2006). En situation pathologique, telle que dans la MH, la fonction dans le transport vésiculaire de la protéine httm est altérée, ce qui chemine vers la dégénérescence des neurones du striatum. In vitro, l'ajout de BDNF inhibe la mort des neurones striatales induite par la httm. In vivo, une diminution de la concentration de BDNF au cerveau est observée chez les patients atteints de la MH, est associé à un défaut transcriptionnelle (Cattaneo *et al.*, 2001) et à une dérégulation du transport vésiculaire menant à une altération de la libération du BDNF dans la synapse (Gauthier *et al.*, 2004) réduisant ainsi la capacité des neurones à libérer ce facteur crucial pour la survie neuronale. Ces résultats fournissent l'un des modèles convaincants pour mieux comprendre la neurodégénérescence au cerveau dans la MH.

Régulation de la transcription

La htt collabore dans la régulation de la transcription en se liant à certains facteurs de transcription. La htt a un rôle à jouer dans l'expression de certains gènes. L'interaction directe de la htt avec des facteurs de transcription semble être le mécanisme par lequel la htt contrôle l'expression du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF). Le gène qui code pour le BDNF est précédé d'une région régulatrice dite : répresseur de transcription de l'élément 1 (REST)/facteur restrictif de silençage neuronale (NRSF). Lorsque cette région est reconnue, elle peut être liée par un facteur de transcription qui a le même site REST/NRSF. La liaison de REST/NRSF avec htt séquestre le complexe dans le cytoplasme et active du même coup l'expression génique, tel le BDNF (Zuccato *et al.*, 2003). La htt peut aussi inhiber la transcription en se dirigeant vers sa cible nucléaire et lier la séquence consensus du gène qui encode pour le BDNF (Borrell-Pages *et al.*, 2006). Dans la MH, la httm a une dysfonction de la reconnaissance de sa cible nucléaire, ce qui inhibe la transcription du BDNF. Au final, il en résulte un déficit de ce facteur neurotrophique essentielle à l'homéostasie neuronale.

Le rôle de la htt dans la régulation transcriptionnelle est principalement associé à sa capacité de se déplacer entre le noyau et le cytoplasme. Bien que la htt soit majoritairement détecté au cytoplasme des neurones (neurites et synapses), la protéine pleine longueur et ses fragments sont aussi détecté au noyau. Pour que la htt soit détecté au noyau, elle doit être capable de traverser la membrane nucléaire via un pore (Cornett *et al.*, 2005). Généralement, les grandes protéines qui entrent dans le noyau ont un signal de localisation nucléaire (NLS), fonction inverse de la NES (signal de l'export nucléaire). Cependant, la structure de la htt ne contiendrait pas de NLS classique. Ce qui suggère que la htt serait impliqué dans un complexe protéique qui fait la navette entre le noyau et le cytoplasme (Zuccato *et al.*, 2003, Ross & Tabrizi, 2011). La htt affecterait aussi la régulation des facteurs de transcription en les autorisant à pénétrer dans le noyau seulement à certains moments. Il est intéressant de souligner que la htt interagit avec bon nombre de protéines impliquées dans l'expression des gènes du transport et de la signalisation intracellulaire ainsi que du métabolisme (Li & Li, 2004, Harjes & Wanker, 2003).

Inhibition de la mort cellulaire programmée (apoptose)

Un rôle neuroprotecteur de la htt a été suggéré à la suite du développement d'une neurodégénérescence sévère chez des souris adultes causé par la désactivation du gène HTT (Leavitt *et al.*, 2006). Inversement, dans les modèles de souris qui surexpriment htt dans leurs neurones ceux-ci semblent être protégées pour certains types de lésions cérébrales telles ischémies ou la neurodégénérescence médiée par le récepteur NMDA (Zhang *et al.*, 2003, Leavitt *et al.*, 2006). Un niveau d'expression supérieur de la htt semblerait être neuroprotecteur chez les souris (Rigamonti *et al.*, 2001). L'apoptose dans les neurones de vertébrés dépend de l'action des caspases, des enzymes qui clivent certaines protéines à des sites spécifiques et génèrent des fragments. Les qualités anti-apoptotiques de htt sont supportées par des observations qui démontrent que l'activation de la procaspase-8, impliquée dans la voie signalétique de HIP-1, est diminuée par htt (Gervais *et al.*, 2002, Hackam *et al.*, 2000) et que caspase-8 est activé par des motifs polyglutamines, donc httm pourrait possiblement mener à l'activation de caspase-8 au contraire de htt (Shikama & Yamada, 2001). Sans oublier de mentionner qu'il est suggéré dans bon nombre d'études que la protéine htt pourrait être un inhibiteur de caspase (Graham *et al.*, 2006, Wellington *et al.*, 2000, Kim *et al.*, 2001).

La httm peut être clivée par plusieurs protéases, *in vitro* et *in vivo*. Les produits issus du clivage ont été retrouvés dans des cerveaux de patients et dans des modèles murins de la MH (Mende-Mueller *et al.*, 2001). Ces protéases comprennent les caspase-1, -3, -6, -7 et -8, les calpaïnes et les aspartyles-protéases (Gafni *et al.*, 2004, Goldberg *et al.*, 1996, Lunkes *et al.*, 2002, Kim *et al.*, 2002, Hermel *et al.*, 2004, Wellington *et al.*, 1998). L'activation anormale de ces protéases pourrait être le résultat de divers affronts perçus par les neurones affectés dans la MH, tels que des niveaux excessifs de Ca^{2+} cytosolique, l'excitotoxicité, une réduction du soutien tropique et de l'activation de la machinerie apoptotique.

Le clivage protéolytique de la httm génère des fragments en N-terminal contenant la section de polyglutamine (polyQ). La translocation nucléaire du fragment N-terminal de la httm est une étape clé pour induire la neurodégénérescence (Saudou *et al.*, 1998). Certaines caspases, tel la caspase-6 semble particulièrement efficace pour générer le fragment en N-terminal de

la httm (Graham *et al.*, 2011, Graham *et al.*, 2010). Lors d'une réduction de la génération du fragment N-terminal de la httm il y a diminution de la toxicité et un ralentissement de la progression de la MH (Wellington *et al.*, 2000, Gafni *et al.*, 2004, Graham *et al.*, 2006).

Développement embryonnaire

Les rôles et fonctions de htt sont généralement associés aux mécanismes neuronaux. Il n'en reste pas moins que htt semble aussi avoir des actions essentielles dans le développement embryonnaire et la neurogenèse. Les études menées sur des souris knock-out HTT ont révélé que des embryons meurent dans les sept à huit jours suivant la fécondation (Duyao *et al.*, 1995, White *et al.*, 1997b). La simple présence de la htt dans l'embryon en développement n'est pas suffisante. La protéine htt doit être présente en quantités suffisantes. Il a été montré que les souris qui expriment 50% ou moins du niveau normal attendu de la htt sont en mesure de survivre jusqu'au huitième jour postfécondation. Les souriceaux qui expriment entre 50% et 90% du niveau normal attendu de la htt montrent d'importants défauts dans leur développement au niveau de leur système nerveux. Ils sont généralement en mesure d'atteindre l'âge adulte, mais développent des comportements anormaux, des troubles cognitifs et de la neurodégénérescence dans des zones précises du cerveau (Dragatsis *et al.*, 2000).

Modèles de rongeurs de la MH

Il est commun d'utiliser des modèles animaux pour mimer et approfondir les connaissances sur une maladie. L'un des principaux avantages est qu'il est beaucoup plus facile de normaliser l'environnement du modèle animal que de l'humain. En plus, il est uniquement possible d'utiliser les tissus humains à la mort du patient, tandis qu'avec les animaux il est possible d'effectuer des prélèvements à différents intervalles de temps et ainsi approfondir les connaissances sur la mécanistique menant à la pathologie.

Tableau 1. Les modèles de souris les plus communément utilisés pour l'étude de la MH

Modèle de souris	Répétitions de CAG*	Insertion	Promoteur	Manifestation de symptômes			Début des NIIs (semaines)	Localisation des NIIs **	Atrophie striatale (semaines)
				Moteur	Cognitif	Comportement			
R6/1*	115	67 aa	<i>HTT</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	< 6	Généralisé	16
R6/2*	145	67 aa	<i>HTT</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	< 6	Généralisé	13
N171-82Q	82	171 aa	<i>Prp</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	24	Généralisé	10
HdhQ 92	90	Chimère exon 1	<i>Htt</i>	Tardif	Hâtif	Tardif	40	Striatale	Absente
HdhQ 111	109	Chimère exon 1	<i>Htt</i>	Tardif	?	Hâtif	24	Généralisé	Absente
HdhQ 150	150	Chimère de l'exon 1	<i>Htt</i>	Milieu	Milieu	?	20	Généralisé	100
HdhQ 140	140	Chimère exon 1	<i>Htt</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	16	Généralisé	110
YAC 128	128	Humain	<i>HTT et élément de régulation</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	56	Généralisé	12
BACHD	97	Humain	<i>HTT et élément de régulation</i>	Hâtif	Hâtif	Hâtif	56	Striatale et cortical	56
zQ175	188	Chimère exon 1	<i>Htt</i>	Hâtif	Milieu	?	N/D	N/D	12

* Le nombre de répétitions de CAG est ceci déterminé à l'origine de la création du modèle de la MH. Certains modèles de souris présentent une forte instabilité et leur nombre de répétitions de CAG augmente au fils du temps et des croisements.

** La propagation de l'inclusion neuronale du fragment N-terminale (excitotoxique) intranucléaire (NIIs) est considérée sur la base d'un rapport qui peut possiblement ne pas inclure des évaluations au-delà du striatum et le cortex. Généralement, les modèles sont conçus pour propager l'inclusion intranucléaire au-delà du striatum et le cortex.

Tableau 1 adapté de Nguyen & Nilsson, 2015

Le modèle de souris YAC128 exprime le gène HTTm humain à sa pleine longueur, celui-ci est régulé sous les contrôles endogènes et récapitule avec précision plusieurs signes et

symptômes de la MH, incluant la dégénération sélective striatale (Slow *et al.*, 2003, Van Raamsdonk, Murphy, *et al.*, 2005, Van Raamsdonk, Pearson, Slow, *et al.*, 2005, Pouladi *et al.*, 2009). Nous avons utilisé ce modèle pour notre étude.

Les modèles de rat sont moins communs que les modèles de souris pour étudier la MH. En revanche, les modèles de rat peuvent présenter des avantages substantiels dans la compréhension du fonctionnement et du comportement biologique. Pour preuve, des modèles de rats sont utilisés pour l'étude de bon nombre de pathologies, telles certaines maladies neurodégénératives comme la MH (Hammer *et al.*, 1990, von Hörsten *et al.*, 2003, Yamada *et al.*, 2004, Liu *et al.*, 2008, Nguyen & Nilsson, 2015). Il a été démontré que les modèles de rats présentent d'excellentes habilités aux apprentissages et à l'identification de déficit cognitif qui peut être présent dans les premiers stades de la MH (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Pour cette raison, un modèle de rat de la MH a été entre autres utilisé pour mon étude afin de relativiser et pouvoir comparer entre les BACHD et les YAC128 les niveaux d'expression de l'ARNm et de protéine de certaines caspases dans le bulbe olfactif (BO).

Dans le passé, un modèle de rat transgénique a été généré. Ce modèle exprime un fragment de la httm de l'humain (von Hörsten *et al.*, 2003) et démontre plusieurs aspects de la MH, mais présente des imperfections dans la réplification de la MH présente chez l'humain. Pour cette raison, un modèle de rat de la MH exprimant la httm pleine longueur humaine sous le contrôle du promoteur HTT humain et de ces éléments de régulation a été générer et caractériser, par l'un des collaborateurs du projet. Ce modèle se rapproche davantage à ce qui est observé chez l'humain. Le modèle de rat transgénique a été généré à l'aide d'un chromosome artificiel de bactérie (BAC), il est nommé BACHD. Les rats BACHD contiennent l'ADN génomique humain du gène HTT pleine longueur contenant 97 répétitions CAG/CAA et inclus tous les éléments de régulation requis (Gray *et al.*, 2008b, Yu-Taeger *et al.*, 2012). Il y a deux lignées au BACHD nommé les TG5 et les TG9. Ces deux lignées expriment un ratio (HTT-001/HTT-011) différent de l'épissage alternatif de l'ARNm de HTT. Lorsque le cerveau entier est analysé, les TG5 exprimeraient plus fortement la httm que les TG9. Les rats TG9 auraient une expression protéique de la httm similaire au modèle des souris BACHD. Il est aussi intéressant de constater que l'expression de la httm varie

selon la région cérébrale analysée. Dans les TG5, le cervelet, le striatum et le cortex exprimeraient plus fortement la *htt*m que le BO, le tronc cérébral et hypothalamus qui présente une expression protéique réduite. Les TG9 présenteraient une forte expression protéique de la *htt*m dans le striatum, le BO et l'hypothalamus lorsque comparé au cervelet, au cortex et au tronc cérébral qui présente une plus faible expression de la *htt*m (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Il est intéressant de souligner que le ratio (HTT-001/HTT-011) a été analysé en ARNm dans le cervelet, le striatum et le cortex. À l'exception du faible ratio observé dans le cortex des TG9, les expressions sont équivalentes dans les TG5 et les TG9. Lorsque comparé au contrôle, le poids corporel de ce modèle murin ne varie guère entre la première semaine et la 64^e semaine d'âges tant dans les TG5 que dans les TG9 (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Dans le modèle de rat BACHD, un déficit moteur a été observé par l'analyse des fonctions motrices dès l'âge de 1 mois et ce déficit ne cesse de s'accroître jusqu'au 11^e mois dans les TG5, lorsque comparés au TG9 et au WT (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Une stratégie de marche anormale a été observée dès 3 mois dans les TG5 et dès 5 mois dans les TG9 (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Dans le modèle de rat BACHD, une diminution de l'anxiété a été observée dès 4 mois dans les TG5 (Yu-Taeger *et al.*, 2012), mais dans les TG9 l'information n'est guère disponible. Il est aussi intéressant de souligner que de l'hypoactivité (Yu-Taeger *et al.*, 2012) ainsi qu'une diminution de la prise alimentaire a été observée dès 3 mois dans les TG5 et les TG9 (Yu-Taeger *et al.*, 2012, Jansson *et al.*, 2014). Le début de l'apparition des Nlls n'ait pas documenté, mais au niveau du cortex les Nlls apparaissent vers 9 mois dans les TG5 et ceux-ci semblent être généralisés dans de nombreuses structures cérébrales à 12 mois (Yu-Taeger *et al.*, 2012).

Les modèles choisis reposent sur la validité de construction et leur représentativité de la MH. Les modèles YAC128 et BACHD ont été choisis car ils ont une insertion pleine longueur du gène HTT humain incluant les éléments de régulation qui récapitule avec précision les signes et symptômes de la MH observé chez l'humain. Les YAC128 et BACHD sont connues pour développer progressivement les symptômes moteurs, cognitif et des troubles psychiatriques et ce en lien avec l'atrophie striatale et corticale observé. L'utilisation de deux modèles animaux est dans le but d'approfondir la compréhension de la MH, ainsi en effectuant des observations similaires dans les deux modèles il est possible de mieux cerner les observations

assujetties à être propre à la MH et non uniquement à l'un des modèles animaux utilisés. Le choix ne s'est pas arrêté sur les modèles de troncation du fragment N-terminal de HTTm du à leur instabilité somatique et à l'apparition hâtive des symptômes moteurs, cognitifs (Pouladi et al., 2013, Menalled et al., 2002), ni sur les modèles pleine longueur de la MH dit knock-in contenant l'exon 1 HTT car ces modèles diffèrent par la nature de leur région riche en proline de l'exon 1 (Menalled et al., 2003a, Wheeler et al., 1999). En plus, l'atrophie striatale subvient à un âge très tardif et les signes et symptômes ont démontré une expression irrégulière (Tableau 1).

Le système olfactif

Le sens de l'olfaction est un sens important chez les animaux et chez les humains. Pour qu'il y ait détection d'une odeur il faut que le composé odorant se lie aux récepteurs olfactifs dans la muqueuse nasale. La muqueuse est tapissée de neurones olfactifs primaires. Ces neurones sont la jonction entre l'épithélium olfactif (OE) et le bulbe olfactif (BO) pour la transmission du signal. Les interneurones jouent un rôle majeur dans l'intensité des signaux olfactifs ressentis dans le BO puis acheminés au cortex olfactif. Par exemple, grâce aux interneurones après plusieurs expositions à une même odeur soit on détecte cette odeur très rapidement ou pas du tout selon le réflexe associé à l'odeur.

La compréhension du fonctionnement du système olfactif et de sa relation entre les neurones sensitifs olfactifs et la réponse comportementale nécessite une meilleure exploration des mécanismes liés au circuit corticaux et du ganglion de la base. Le fonctionnement du code olfactif transmis au niveau du glomérule du BO est acheminé par les cellules mitrales et de tuftes vers le cortex olfactif et il est associé à l'aire de transmission codant l'information appropriée pour un comportement (Mori, 2014). Le mécanisme précis de cette transmission du signal olfactif demeure cependant inconnu.

Il est difficile d'associer l'origine de la diversité et de la complexité de la perception, de la motivation comportementale et du comportement émotif. Par exemple, chez les animaux, la détection de la nourriture est relative à un comportement appris à suivre la piste d'une proie et effectuer la recherche de nourriture. L'expression de ce comportement dépend directement du désir de la nourriture (la faim) et de la soif. En réponse à une odeur de prédateur, c'est une

bonne stratégie pour un rongeur de s'échapper face à un danger. Les odeurs de sexe opposé engendrent une plus grande différence de réponse comportementale (Wyart *et al.*, 2007) et les odeurs des congénères sont distinctives afin d'inclure divers comportements sociaux (Doty, 1986).

Le BO et le cortex olfactif se trouvent dans le segment du télencéphale, qui inclut aussi le cortex piriforme (PC) et le cortex entorhinal (LEA). La découverte des récepteurs olfactifs a permis un progrès rapide dans la compréhension du mécanisme associé au code des odeurs au niveau des récepteurs olfactifs, des neurones sensitifs olfactifs et des glomérules présents dans le BO (Axel, 1995, Buck & Axel, 1991)

Caractéristiques uniques des voies olfactives

Le système olfactif murin exprime un type de récepteur olfactif fonctionnel par neurone olfactif sensitif. Il y a plus de 1000 types de récepteurs olfactifs différents qui sont connus pour être associés au phénomène nommé de la loi « une cellule, un récepteur ». Chaque neurone olfactif sensitif connecté au récepteur olfactif projette un axone à un seul glomérule du bulbe olfactif (BO). Le BO de souris contient en moyenne environ 1800 glomérules distribués selon une organisation spatiale de surface. Chaque glomérule représente un type unique de récepteur olfactif répondant à la loi « un glomérule, un récepteur ». Ainsi, chaque glomérule pris individuellement dans le BO représente un récepteur olfactif particulier. La disposition des neurones olfactifs sensitifs qui se connectent avec les glomérules forme une carte olfactive qui permet la détection d'odeur explicite. Chaque glomérule reçoit des projections axonales excitatrices de cellules de tufted ou de cellules mitrales issus de dendrites primaires. Chaque cellule de tufted et mitrale ont des projections dendritiques primaires unitaires vers un seul glomérule. Chaque glomérule considéré individuellement est associé soit à une cellule de tufted ou à une cellule mitrale afin de former un module fonctionnel (Shepherd *et al.*, 2004, Mori & Sakano, 2011).

Les projections de chaque glomérule vers le cortex olfactif sont issues d'un axone olfactif excitateur qui a une connexion synaptique vers les dendrites primaires des cellules de tufteds terminales. Il existe deux types de projections neuronales issus d'un même glomérule : les cellules de tufteds et les cellules mitrales. Ainsi, les glomérules sont dits des unités

la couche plexiforme externe (sEPL). Tandis que les cellules mitrales présentent de longues extensions de leur dendrite secondaire dans la partie profonde de la couche plexiforme externe (EPL). (Autre abréviation retrouvée dans le schéma : ONL couche nerveuse olfactive, MCL couche de cellule mitrale, IPL couche plexiforme interne, GCL couche de cellules granulaire).

Figure 2 adaptée de Mori, 2014

Lorsque considérées individuellement, les cellules mitrales ont un large corps cellulaire localisé dans la couche des cellules mitrales du bulbe olfactif (BO) et elles projettent leurs axones de façon dispersée dans les différentes zones du cortex olfactif, entre autres au niveau du cortex piriforme (PC), cortex entorhinal (LEA) et du tubercule olfactif (OT). Tandis que les cellules de tufteds ont un petit corps cellulaire et sont distribuées dans la couche plexiforme externe du BO. Chaque cellule de tufteds projette leurs axones sélectivement vers des cibles précises, entre autres, vers l'aire du OT et dans la partie rostroventrale du PC antérieur (Kikuta *et al.*, 2013, Orona *et al.*, 1984, Mori, 2014).

La concentration de stimulus olfactif auquel on peut être exposé a aussi un rôle clé dans l'activation des cellules mitrales et de tufteds. Dans une situation où un gradient croissant de la même odeur est présenté au rongeur, les cellules de tufteds sont activées en premier lieu, suivies par les cellules mitrales. Les cellules de tufteds permettent la détection rapide d'une odeur lorsque celle-ci est faiblement concentrée. Par contre, si une odeur est fortement concentrée les cellules mitrales et les cellules de tufteds s'activent en parallèle (Mori, 2014)

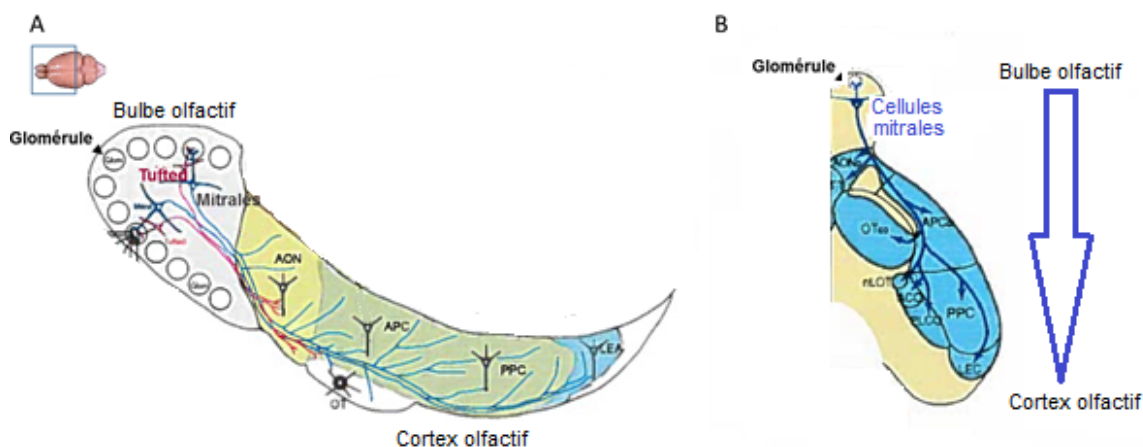


Figure 3 Schématisation des projections axonales des cellules mitrales et de tufteds dans le cortex olfactif.

A) Vue sagittale et B) Vue coronale des projections axonales de cellules mitrales et de tufteds. Les cellules de tufted davantage impliqué dans la détection rapide de signaux olfactif ont des projections au niveau du noyau olfactif antérieur (AON) et du tubercule olfactif (OT). Tandis que les cellules mitrales qui sont davantage impliquées dans la reconnaissance spécifique d'odeur ont des projections axonales plus en profondeur dans le cortex olfactif soit au AON, au cortex piriforme (PC) antérieur et postérieur, au cortex entorhinal (LEA) et au OT, nLOT: noyau de la voie olfactive latérale, ACO: noyau cortical amygdaloïde antérieur, PLCO: noyau cortical amygdaloïde postérolatéral.

Figure 3 adaptée de Mori, 2014

Interneurones dans le bulbe olfactif

La majorité des interneurones du bulbe olfactif (BO) sont des cellules granulaires (GC), mais il y a aussi les cellules périglomérulaires (GPC). Les GC forment une couche épaisse dans le BO qui porte son nom, GCL (Figure 2). Les interneurones caractérisent et modulent la structure synaptique. Les cellules mitrales et de tufteds sont de nature excitatrice, mais les interneurones ont des projections neuronales inhibitrices qui ont une action sur les cellules mitrales et de tufteds. Dans la plupart des régions du cerveau, on retrouve un petit nombre de neurones régulateurs effectuant une inhibition locale pour l'activité d'un grand nombre de neurones de projection excitatrice. Dans le BO, une relation contraire est retrouvée. Les neurones inhibiteurs excèdent largement le nombre de neurones de projections excitatrices telles les cellules mitrales et de tufteds (Kaplan *et al.*, 1985, Parrish-Aungst *et al.*, 2007). Dans le BO, les GC et GPC, sont deux fois plus abondantes que les autres types d'interneurones (Mori, 1987, Shepherd *et al.*, 2004) et le nombre de GC est supérieurs d'une fois le nombre de GPC.

Les GC et GPC sont les 2 types d'interneurones majoritairement retrouvés dans le BO, mais le BO est un environnement hétérogène avec un large éventail de sous-type d'interneurones. Les différents sous-types d'interneurones, lorsque considérés individuellement, sont importants pour une compréhension approfondie du circuit neuronal présent dans le BO. Leurs fonctions individuelles tant dans leurs expressions moléculaires que leur morphologie est décrite comme les futurs fondements permettant la compréhension de l'activité coopérative dans le traitement de l'information olfactive (Mori, 2014).

Les GPC se sous-divisent en 3 populations selon leur expression moléculaire : 1) Tyrosine hydroxylase (TH) 2) Calrétinine 3) Carbindine (Kosaka *et al.*, 1995, Parrish-Aungst *et al.*, 2007). Il est connu que certaines GC expriment la calmoduline (Gribaudo *et al.*, 2009), mais il n'en reste pas moins que la majorité des GC n'exprime pas de marqueur protéique connu pour les sous-types d'interneurones. Ainsi, les GC présentent probablement une hétérogénéité moléculaire moins étendue.

Il est intéressant de souligner que l'ablation au laser de cellules exprimant TH vont être compensé par la génération et l'intégration de nouveau GPC exprimant TH. La génération et l'intégration de nouveaux GPC se feront dans le même positionnement qu'avant l'ablation de ces cellules (Sawada *et al.*, 2011) suggérant la restauration du circuit neuronal. La restauration du circuit neuronal est probablement un mécanisme de compensation de sous-type cellulaire spécifique permettant le renouvellement d'interneurones lors de la neurogenèse à l'âge adulte.

Généralité et particularité du cortex olfactif

Le cortex olfactif est la portion du cerveau qui reçoit les projections directes du bulbe olfactif (BO). Il y a 5 aires qui composent le cortex olfactif : (1) le noyau olfactif antérieur qui connecte le BO dans la commissure antérieure, (2) le noyau cortical de l'amygdale, (3) le tubercule olfactif (OT), (4) le cortex entorhinal (LEA) et (5) le cortex piriforme (PC).

Le PC est l'aire la plus large du cortex olfactif. Cette aire corticale donne l'impression d'avoir été pensé pour une utilisation associée à une large distribution spatiale avec un ensemble de chevauchement de neurones pyramidaux actifs dans la représentativité des odeurs. Le PC se compose du PC antérieur et du PC postérieur. Le PC antérieur reçoit les afférences du BO qui font synapses (glutamatergique excitatrice) avec les neurones pyramidaux présents dans le cortex olfactif. Ainsi, les signaux perçus par le BO passent d'abord au PC antérieur puis vont au PC postérieur pour être redistribués aux autres aires du cortex olfactif. Le PC a de nombreuses projections vers le OT (Neville & Haberly, 2004, Mori, 2014).

Le contrôle des projections n'est pas direct entre le PC et le OT. Le striatum ventral, composé du noyau accumbens et du OT, joue un rôle clé dans l'interface entre le signal sensoriel et la motivation comportementale (Ikemoto, 2007). Le OT est particulier lorsque comparé aux autres aires du cortex olfactif dû à ces fonctions distinctives. Les principaux neurones qui le composent sont des neurones GABAnergiques épineux moyens (Millhouse & Heimer, 1984). Ces neurones sont acheminés pour former des efférences inhibitrices vers les autres neurones du pallidum ventral contenu dans le ganglion de la base. Il est aussi intéressant de souligner, que les neurones du pallidum ventral sont aussi des neurones GABAnergiques envoyant des signaux inhibiteurs aux neurones présents au noyau médiodorsal du thalamus, aux neurones dopaminergiques de l'aire tégumentaire ventrale et aux neurones de l'hypothalamus latéral. (Heimer, 2014, Ikemoto, 2003, 2007, Ikemoto *et al.*, 2005, Switzer *et al.*, 1982)

La neurogenèse à l'âge adulte

La production de nouveau neurone (neurogenèse) se déroule principalement durant l'embryogenèse et la période néonatale dans la plupart des régions du cerveau, et ce tant chez l'humain que chez les rongeurs. Cependant, il est bien établi qu'il y a aussi une neurogenèse continue à l'âge adulte à partir de progéniture neuronale dans certaines régions précises du système nerveux central chez les mammifères (Breunig *et al.*, 2007). Les interneurones, des rongeurs présentent dans le BO, peuvent être continuellement générés, même à l'âge adulte (Lledo *et al.*, 2006). La neurogenèse est présente dans certaines régions spécifiques du cerveau dû à certains types cellulaires très précis qu'on y trouve. Ces types cellulaires ne sont pas observées dans les régions du cerveau. Chez l'humain et le rongeur, la zone subventriculaire (SVZ) contient des cellules qui prolifèrent *in vivo* et qui se comportent comme des cellules souches multipotentes *in vitro* (Bédard & Parent, 2004, Bernier *et al.*, 2000, Johansson *et al.*, 1999, Kirschenbaum *et al.*, 1994, Kukekov *et al.*, 1999, Nunes *et al.*, 2003, Palmer *et al.*, 2001, Sanai *et al.*, 2004). Les connaissances actuelles sur la neurogenèse à l'âge adulte peuvent être extrapolées à l'homme avec certaines considérations (Breunig *et al.*, 2007).

L'humain et le rongeur présentent dans leur système olfactif et dans l'épithélium olfactif (OE), des OSN effectuant continuellement un renouvellement d'interneurones tout au long de la vie du sujet. Il y a perte des vieilles cellules et incorporation de nouvelles. Le

renouvellement des axones cibles des OSN continue à exprimer un type précis de récepteurs olfactifs avec une topographie précise qui est maintenue fixe au niveau des glomérules (Gogos *et al.*, 2000). Les OSN sont une aide pour le soutien du circuit neuronal en dépit de la fréquence des pertes et des dommages. Le renouvellement des interneurones présents dans le bulbe olfactif (BO) présente des opportunités favorables pour remodeler extensivement les connexions de neurones au sein du BO.

Chez le rongeur, les précurseurs des interneurones du BO sont produits au niveau du cerveau dans la SVZ du ventricule latéral. Les précurseurs embryogéniques de cellules souches progénitrices, présentent dans la SVZ à l'âge adulte, proviennent de l'éminence ganglionnaire et du néocortex (Young *et al.*, 2007). Les précurseurs neuronaux présents dans la SVZ migrent le long d'une route spécifique constituée d'un échafaudage astrocytaire, nommé le flux rostral migratoire (RMS) jusqu'au BO où les précurseurs neuronaux se différencient en deux types d'interneurones : les cellules granulaires (GC) et les cellules périglomérulaire (GPC). Il est à noter que les précurseurs des interneurones dans la SVZ sont hétérogènes et que leurs différenciations dans le BO dépendent de leur positionnement dans la SVZ (Merkle *et al.*, 2007).

La génération des GC et des GPC atteint un pic de génération durant la phase tardive de l'embryogenèse et durant la phase hâtive de la période néonatale. Il n'en reste pas moins que la génération des interneurones continue substantiellement à l'âge adulte. Chez le rongeur, des dizaines de milliers de neurones entrent dans le BO chaque jour (Alvarez-Buylla *et al.*, 2001, Winner *et al.*, 2002, Lledo *et al.*, 2006), ce nombre correspond grossièrement à 1% du nombre total des interneurones en présence dans le BO. Bien que le nombre total des interneurones dans le BO semble diminuer avec le vieillissement, il est intéressant de souligner que la neurogenèse chez le rongeur est détectée même chez des souris de 2 ans (Enwere *et al.*, 2004).

Les GC issus de la neurogenèse à l'âge adulte mature de façon similaire, lorsque comparés aux GC issus de l'embryogenèse. Les GC reçoivent les contacts glutaminergiques des cellules mitrales et de tufteds qui proviennent de l'embryogenèse ou de la neurogenèse à

l'âge adulte. C'est par les synapses dendrodendritiques dans la couche plexiforme externe et des cellules pyramidales du cortex olfactif à l'aide de leurs connexions synaptiques axodendritiques de la GCL que les synapses environnant le BO incorporent les GC issus de la neurogenèse à l'âge adulte après environ 1 mois suivant leur génération (Petreanu & Alvarez-Buylla, 2002, Carleton *et al.*, 2003, Whitman & Greer, 2007, Kelsch *et al.*, 2008, Kelsch *et al.*, 2010, Katagiri *et al.*, 2011). D'abord, il y a le contact synaptique axodendritique de cortex olfactif vers les cellules pyramidales aux alentours du 14e jour, suivis par le contact dendritique des cellules mitrales et de tufteds vers le 21e jour. Les structures synaptiques commencent à être indiscernables par leur maturation vers le 28e jour. Malheureusement, l'information sur la maturation des GPC est encore mal documentée, mais les GPC issus de la neurogenèse à l'âge adulte développent des liaisons synaptiques avec les OSN de l'OE (Luskin, 1993, Alvarez-Buylla & García-Verdugo, 2002) sans modifier l'intégrité des glomérules impliqués dans la reconnaissance spécifique d'odeur (Belluzzi *et al.*, 2003). Le développement et l'activité des GPC sont dépendants de l'occlusion nasale (Mandairon *et al.*, 2006), de l'enrichissement de l'environnement pour des expositions à de nouvelles odeurs (Rocheffort *et al.*, 2002) et à des apprentissages induit par les odeurs (Alonso *et al.*, 2006). Ces facteurs influencent aussi la survie des GPC générées à l'âge adulte.

La SVZ de l'humain et du rongeur est une niche neurogénique propice pour la neurogenèse à l'âge adulte. L'investigation lors d'autopsie sur l'humain pour les structures nécessaires au RMS, située dans le BO dans d'autres mammifères et primates, ont dévoilé des équivalences chez l'humain (Sanai *et al.*, 2004, Kornack & Rakic, 2001, Curtis *et al.*, 2007). Certaines études ont mis en évidence une faible présence de la neurogenèse à l'âge adulte chez l'humain dans le néocortex (Bhardwaj *et al.*, 2006) et le BO (Bergmann *et al.*, 2012) contrairement au rongeur. Cependant, la présence de la neurogenèse à l'âge adulte présenterait une plus forte présence au niveau du striatum adjacent du SVZ (Ernst *et al.*, 2014) pouvant suggérer une modification dans l'arbre phylogénétique des mammifères au niveau de la neurogenèse (Kempermann, 2014, Kempermann, 2012)

Il est aussi intéressant de souligner que le gyrus denté et l'hippocampe humain, étroitement impliqué dans la mémoire critique et les capacités cognitives, présentent des niveaux substantiels de neurogenèse à l'âge adulte (Spalding *et al.*, 2013) chez l'homme.

L'apoptose et la neurogenèse à l'âge adulte

En condition normale, ce ne sont pas tous les nouveaux interneurons qui seront stabilisés et incorporés dans le circuit neuronal du bulbe olfactif (BO). Seulement la moitié des nouvelles cellules granulaires (GC) qui ont été générées à l'âge adulte, soit après 3 mois d'âge, réussissent à vivre plus longtemps que le 1 mois nécessaire à leur implantation et leur maturation au sein du circuit neuronal du BO. L'autre moitié des nouvelles GC ayant été générée à l'âge adulte sont éliminée par apoptose (Petreanu & Alvarez-Buylla, 2002, Winner *et al.*, 2002, Yamaguchi & Mori, 2005).

L'apoptose est liée à la mort cellulaire programmée, ce processus est en quelque sorte un suicide cellulaire ordonné. L'apoptose peut être activée par des facteurs intrinsèques (macromolécule endommagée) ou extrinsèque (signaux extracellulaires) à la cellule. Mais lorsqu'un signal typique de l'apoptose est détecté par la cellule, il peut y avoir relâche du cytochrome c dans le cytosol induit par la perméabilisation de la membrane mitochondriale. De là, une série d'enzymes intracellulaire s'active, les caspases. Les caspases sont dans la famille des cystéines protéases clivant après un résidu aspartate. La cascade d'activité des caspases est associée à la digestion de protéines intracellulaires affectant l'ensemble de la cellule, telle la fragmentation du noyau cellulaire. Ainsi, l'apoptose induit des changements morphologiques qui peut mener à la mort de la cellule. Il n'y a pas de réactions inflammatoires induites par une mort cellulaire apoptotique, mais des signaux sont émis pour qu'elle soit phagocytée.

Quand l'apoptose est éliminée par des inhibiteurs de caspase, la génération des interneurons du BO à l'âge adulte semble être perturbé affectant leur habilité dans la discrimination olfactive (Mouret *et al.*, 2009). Ce constat est possiblement induit par l'incorporation inappropriée d'interneurones modifiant le réseau synaptique désiré et par ce fait, le traitement de l'information.

L'expérience sensorielle olfactive des rongeurs au cours de leur vie adulte affecte la survie des GC. Une augmentation de la survie de nouvelles GC est observée lorsqu'elles sont exposées à de nouvelles odeurs de façon répétitive (Rocheffort *et al.*, 2002). Une diminution de la survie de nouvelles GC est observée chez les rongeurs anosmiques (Petreanu & Alvarez-Buylla, 2002) et qui ont une privatisation sensorielle unilatérale (Corotto *et al.*, 1994, Saghatelian *et al.*, 2005, Yamaguchi & Mori, 2005, Mandairon *et al.*, 2006).

La privatisation de stimuli olfactifs induit une remarquable augmentation de l'apoptose des GC du BO. Par cette privatisation de stimuli, une augmentation de l'expression de caspase-3 est aussi détectée en immunohistochimie (IHC) (Yamaguchi & Mori, 2005). Le comportement du rongeur influencerait aussi la survie des GC. Il est maintenant connu que la réponse comportementale d'un animal peut être étroitement influencée par ces expériences olfactives, sa mémoire et la neurogenèse (Lazarini & Lledo, 2011, Breton-Provencher & Saghatelian, 2012, Kageyama *et al.*, 2012). La recherche de nourriture, l'instinct de se reproduire et d'échapper à un prédateur sont des comportements vitaux essentiels pour la survie (Doty, 1986).

Les caspases ont la capacité de déclencher un processus dégénératif dans certaines conditions, tel le vieillissement. Il semblerait que l'activation de caspase-9 dans le BO vieillissant n'a pas un rôle apoptotique. Il a été observé que l'activité de caspase-9 serait supérieure dans les BO de souris vieillissantes, que dans de jeunes BO (Ohsawa *et al.*, 2009). Cependant, lorsqu'il y a un dénombrement de cellules mourantes, ayant subi l'apoptose, ce nombre est moins élevé dans le BO âgé que dans les jeunes BO (Ohsawa *et al.*, 2009). Les GC du BO seraient plus susceptibles à l'apoptose, basée sur une augmentation du marquage de caspase-3 active (Yamaguchi & Mori, 2005). Le nombre inférieur de cellules apoptotiques dans le BO âgé est accompagné d'une expression diminuée de la procaspase-3 (Ohsawa *et al.*, 2009).

Olfaction dans la maladie de Huntington

Les modèles de souris transgéniques de la MH représentent une excellente figuration et sont des constructions valides qui récapitulent adéquatement plusieurs symptômes observés dans la MH et ce en utilisant une panoplie de tests standards comportementaux (Crawley, 2008,

Pouladi *et al.*, 2009). Chez les patients de la MH leurs activités quotidiennes s'en trouvent affectées, et ce dès le stade prodrome. Certaines de ces activités quotidiennes nécessitent de la sensibilité et de la discrimination olfactive, paramètres qui sont actuellement guère pris en considération directement dans l'évaluation des modèles murins de la MH (Beglinger *et al.*, 2010). En contraste, un dérèglement olfactif a été observé chez les patients de la MH et l'approche thérapeutique chez le patient après qu'il ait reçu leur diagnostic est basée sur sa capacité à fonctionner dans les tâches quotidiennes (Willke *et al.*, 2004).

Chez les rongeurs, l'olfaction est un sens primaire (Costantini & D'amato, 2005, Doty, 1986). Dans un modèle murin de la MH, il a été observé que la discrimination olfactive et le déficit d'apprentissage subvenait durant la phase tardive de la maladie (Holter *et al.*, 2013). De plus, il y a présence d'agrégats dans les régions olfactives du cerveau (Hamilton *et al.*, 1999, Kohl *et al.*, 2010).

Chez l'humain, lors du diagnostic de la MH les gens porteurs du HTTm, une association a été démontré entre la présence de la mutation et la diminution des capacités olfactives relative à la détection et de la discrimination olfactive (Bacon Moore *et al.*, 1999, Bylsma *et al.*, 1997, Delmaire *et al.*, 2013, Larsson *et al.*, 2006, Lazic *et al.*, 2007, Moberg & Doty, 1997, Nordin *et al.*, 1995).

Aucun traitement pour les maladies neurodégénératives n'est connu à ce jour, seuls les symptômes se traitent de façon plus ou moins efficace selon les cas. Une voie prometteuse susceptible de mener à un marqueur diagnostique et potentiellement mènera à une approche thérapeutique se situe au niveau du déclin précoce du système olfactif répertorié dans plusieurs maladies neurodégénératives, incluant la MH.

Au stade préclinique, chez l'humain et le modèle de souris de la MH, une augmentation de l'activité de la caspase 6 a été observée dans le striatum et le cortex (Graham *et al.*, 2011). Le striatum est contenu dans le noyau caudé qui contient la zone subventriculaire (SVZ), lieu de neurogenèse. La httm contient un site de clivage pour la caspase-6. Ce clivage au niveau

du striatum et du cortex induit la libération d'un fragment neurotoxique en N-terminal impliqué dans le mécanisme de neurodégénérescence.

Dans les maladies neurodégénératives, une corrélation significative a été montrée entre les fonctions olfactives et la réduction du volume de certaines régions cérébrales tels le cortex entorhinal (LEA), le noyau caudé et la région parahippocampale (Hodgson *et al.*, 1999). Il a aussi été démontré que le dérèglement olfactif observé dans ces maladies est accompagné d'anomalies structurales de l'épithélium olfactif (OE), du bulbe olfactif (BO) et du cortex olfactif (Goldberg *et al.*, 1996, Sistonen *et al.*, 2012). Au stade présymptomatique, le déclin du système olfactif est corrélé à une diminution de la performance globale de cognition, à la dépression et à la dégénération des régions olfactives du cerveau. Dans l'évaluation du déclin du système olfactif et de la neurogenèse dans la MH, une diminution des volumes de bulbes olfactifs pour les YAC128 a été démontrée.

La compréhension des mécanismes associés au déclin du système olfactif permettrait de définir un marqueur sensible et fiable pour la maladie et de connaître l'implication de la caspase dans ce mécanisme. Ainsi, le système olfactif chez la souris modèle de la MH permettra de comprendre le mécanisme impliqué dans le déclin olfactif qui est observé dans la MH chez l'humain.

Hypothèse/problématique

Il a été observé chez l'humain et le modèle de souris de la MH, au stade prémanifestation, une augmentation de l'activité de la caspase-6 contenue dans le striatum et le cortex. Le striatum est contenu dans le noyau caudé qui contient la zone subventriculaire (SVZ), lieu de neurogenèse. La htt contient un site de clivage pour la caspase-6. Le clivage de htt par caspase 6 au niveau du striatum et du cortex induit la libération d'un fragment neurotoxique en N-terminal impliqué dans le mécanisme de neurodégénération. Il a été démontré dans les maladies neurodégénératives une corrélation significative entre les fonctions olfactives et la réduction du volume de certaines régions cérébrales telles le cortex entorhinal (LEA), le noyau caudé et la région parahippocampale. Il a aussi été démontré que le dysfonctionnement olfactif observé dans ces maladies est accompagné d'anomalies structurales de l'épithélium olfactif (OE), du bulbe olfactif (BO) et du cortex olfactif. Au stade présymptomatique, le déclin du système olfactif est corrélé à une diminution de la performance globale de cognition, à la dépression et à la dégénération des régions olfactives du cerveau. Le système olfactif chez la souris modèle de la MH permettra de comprendre le mécanisme impliqué dans le déclin olfactif qui est observé dans la MH chez l'humain.

Mon hypothèse est qu'un dérèglement du système olfactif et une altération de la neurogenèse induite par une irrégularité de l'activité de certaines caspases est induite dès un jeune âge dans le modèle murin YAC128, correspondant au stade présymptomatique chez l'humain.

Objectifs

Objectif #1

Caractériser le cortex et les bulbes olfactifs de modèles murins de la MH pour déterminer s'il y a un déficit olfactif et altérations de la neurogenèse.

Objectif #2

Définir si l'activation des caspases est implicite aux mécanismes du déclin du système olfactif observé dans la MH, ainsi que l'implication des caspases dans cette neurogenèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des modèles murins de la MH. Un modèle de souris nommé YAC128 de souche FVB/N (Slow *et al.*, 2003) et un modèle de rat nommé BACHD contenant deux lignées, les TG5 et les TG9, de source Sprague Dawley (Yu-Taeger *et al.*, 2012) afin de s'assurer que les résultats obtenues soient propres à la MH et non un artéfact dû aux modèles animales utilisés. Sauf indication contraire, les cerveaux entiers de souris, YAC128 de 3 mois (stade postsymptomatique), qui étaient au stade présymptomatique et les cerveaux entiers, de souris de 12 mois, ont été prélevés selon le protocole accepté par le comité éthique et le comité du bien-être animal de l'Université de Colombie-Britannique (A12-0063) et le protocole de l'étude de l'Université de Sherbrooke (374-14 et 375-14). Les bulbes olfactifs (BO) de rats BACHD de trois (3) et de six (6) mois ont été prélevés selon les protocoles acceptés par le comité éthique et le comité du bien-être animal de l'Université de Tuebingen, issus du laboratoire du professeur Yu-Taeger et les protocoles de l'Université de Sherbrooke (374-14 et 375-14). Les rongeurs ont été maintenus en cage avec leur congénère de même famille, de même sexe et avec un mélange des génotypes. Les rongeurs ont été soumis à la photopériode. La phase lumineuse a été de 6:00 à 20:00 suivit d'une phase de noirceur. Toutes les expérimentations ont été faites à l'aveugle.

Immunobuvadage de type Western Blot

Les bulbes olfactifs (BO) ont été homogénisés dans un tampon de lyse (0,32 mM Sucrose, 20 mM Tris à pH 7,2, 1 mM MgCl₂, 0,5 mM EDTA à pH 7,2) avec un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Roche), du PerfaBloc SC (Roche) et du Z-Vad-FMK (Enzolifesciences). Ensuite, la préparation a été centrifugée à 13,000 rpm. La concentration protéique du surnageant a été déterminé par un dosage BCA (acide bicinchoninique) qui est vendu commercialement pour des essais protéiques de la compagnie Pierce. 50 ug de lysat protéique de ont été séparés par électrophorèse sur gel dénaturant SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) de 10% ou 4-15% (BioRad). Le gel a ensuite été transféré sur une membrane de PVDF (Polyvinylidene difluoride) (PerkinElmer). La membrane a ensuite été sondée par des anticorps primaires pour en détecter la présence

en fonction de leur poids moléculaire. Les anticorps primaires qui ont été utilisés étaient : la caspase-8 (Santa Cruz, sc-7890, dilution : 1/100), la caspase-6 (Cell Signaling 9762, dilution : 1/500), la caspase-3 (Cell Signaling 9662, dilution: 1/1000), la htt (Huntington protein, Millipore, MAB2166, dilution 1:500), le marqueur des maladies qui ont une expansion de polyglutamine (Polyglutamine-Expansion Diseases Marker, Millipore MAB1574, dilution 1 :2000) et de l'actine (Millipore, MAB1501, dilution 1 :10 000). Tous les anticorps primaires ont été mis en contact avec la membrane toute une nuit à 4°C. L'amplification et la détection de leur signal ont été possibles à l'aide d'un anticorps secondaire de la même espèce que l'anticorps primaire. L'enzyme «horseradish» peroxydase a été fixé à l'anticorps secondaire. Cette peroxydase a clivé son substrat présent dans la solution dite ECL (Luminata Crescendo Western HRP substrate, Millipore), amplificateur de chimiluminescence. La présence de bande a été détectée et quantifiée par densitométrie obtenue avec l'appareil Odyssey de la compagnie Mandel (Fc imaging system). La quantification de la β -actine a été utilisée pour normaliser la quantité de protéine sur l'ensemble des échantillons. Ainsi, la protéine de référence a été quantifiée par densitométrie.

Quantification de PCR en temps réel

L'ARN total a été extrait des bulbes olfactifs (BO) à l'aide d'une trousse vendu commercialement nommé RNeasy mini kit (QIAGEN) et l'ADN complémentaire (ADNc) a été préparé en utilisant le ProtoScript Reverse transcriptase II (#M0368X, New England BioLabs). La quantification a été réalisée par l'utilisation de Mx3005P QPCR Systems (Stratagene) et ce avec l'utilisation d'amorce qui a été spécifiquement conçu pour la souris et le rat.

Tableau 2. Amorce sens et antisens utilisés pour cet étude

Gène	Spécificité	Sens	Anti-sens
ApoE	Mouse	5'-TGGCTACCAACCCCATCATC-3'	5'-GCAGGACAGGAGAAGGATACTCA-3
Caspase-3	Mouse	5'-TGTCATCTCGCTCTGGTACG-3'	5'-TCCCATAAATGACCCCTTCA-3'
Caspase-6	Mouse	5'-TGGCTCCTGGTACATTCAGGAT-3'	5'-TCCGTGAACTCCAGGGAAGT-3'
Caspase-9	Mouse	5'-GATGCTGTCCCCTATCAGGA-3'	5'-GGGACTGCAGGTCTTCAGAG-3'
Caspase-8	Mouse	5'-CCTAGACTGCAACCGAGAGG-3'	5'-GCAGGCTCAAGTCATCTTCC-3'
Huntington	Mouse	5'-GCAAACTGGAACAGGTGGAT-3'	5'-AAGCAAGCAGCCTGTGGTAT-3'
NeuroD	Mouse	5'-CTCGGACTTTCTTGCTGAG-3'	5'-TCAAAGAAGGGCTCCAGAGC-3'
PgK1	Mouse	5'-CTTTAGCGCCTCCCAAGATAG-3'	5'-GCACACCGAGCCCATAG-3'
Caspase-3	Rat	5'-GGACCTGTGGACCTGAAAAA-3'	5'-GCATGCCATATCATCGTCAG-3'
Caspase-6	Rat	5'-ACGTGGTGGATCATCAGACA-3'	5'-GGAGCCGTTACAGTCTCTC-3'
Caspase-9	Rat	5'-AAGACCATGGCTTTGAGGTG-3'	5'-CAGGAACCGCTCTTCTTGTC-3'
Caspase-8	Rat	5'-GGGGATGGCTACTGTGAAAA-3'	5'-CATGTTCTCGGGTTGTCTT-3'
Huntington	Rat	5'-CTG CTT CTT CTT CGG GTG TC-3'	5'- CTG GTC AAG TCA CAG CCT GA-3'
PgK1	Rat	5'-CCAAACAATCTGCTTAGCTCG-3'	5'-GATGAGAATGCAAAGACTGGC-3'

L'amplification des gènes de références (PgK1) ont été utilisée pour normaliser la quantité d'ARN dans les échantillons dans la réaction. Les niveaux d'expression génique ont été mesurés en utilisant le logiciel MxPro QPCR (Stratagene).

Analyse d'immunohistochimie

Lors du sacrifice des animaux, les souris ont inhalé un agent anesthésiant, l'isoflurane (Baxter). Les animaux ont été euthanasiés par perforation intrapéritonéale. Ensuite, les animaux ont été perfusés par voie transcardiaque d'abord avec du sérum physiologique puis avec de la paraformaldéhyde 3%. Les cerveaux entiers ont été retirés des crânes puis ils ont été trempés pendant 24 heures à 4°C dans de la paraformaldéhyde 3%. Ensuite, les cerveaux entiers ont été retirés et entreposés dans du sérum physiologique qui contient de l'azide

0,05%. Les cerveaux ont été pesés puis, ils ont été coupés en coupe coronale au vibratome, à l'exception des bulbes olfactifs (BO) qui ont été coupés en coupe sagittale (25 um pour les 3 mois et 50 um pour les tissus de 12 mois). Pour la détection des protéines d'intérêts, un anticorps secondaire biotinylé (Vector) a été utilisé avec la dilution 1:1000 avant l'amplification du signal avec un kit ABC Elite (Vector) et de la détection du signal avec une solution qui contient un substrat de la peroxydase, dit DAB (3,3'-diaminobenzidine) (Roche). Les sections de tissus ont été soumises aux immuno-essais en suivant les étapes suivantes : 1) inhibition de la peroxydase endogène avec de la Phénylhydrazine 1% (Sigma-Aldrich). Lavage 3 fois 10 minutes. 2) Blocage avec une solution de 5% NGS, 0,25% de TX-100, 5% BSA et PBS. 3) L'anticorps primaire dilué dans 5% de NGS, 0,25% de TX-100 et PBS durant toute une nuit à 4°C ou à température ambiante.

Tableau 3. Anticorps primaire utilisés en immunohistochimie

Anticorps primaire	Compagnie		Hôte	Dilution
NeuN (NEUronal Nuclei)	Millipore	MAB377	Souris	1/1500
GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein)	Millipore	MAB3402	Souris	1/300
Caspase-8 active	Abcam	ab25901	Lapin	1/1000
Caspase-6 actif	Cell Signaling	#9762	Lapin	1/500
APP Δ C31 (Amyloid A4 protein C31 chain)	Enzo life	ENZ- ABS445	Lapin	1/300
Iba-1	Wako	019-19740	Lapin	1/500
Dcx (Double-cortine)	Abcam	ab18723	Lapin	1/750
TH (Thyrosine Hydroxylase)	Millipore	AB152	Lapin	1/1500

Des sections sans anticorps primaire ont servi de contrôle négatif et des sections sans anticorps secondaire ont aussi servi de contrôle. Les sections ont été lavées 3 fois 10 minutes dans le PBS. 4) Les sections ont été incubées dans une solution d'anticorps secondaire anti-

souris ou anti-lapin biotinylé (dilution 1: 200 dans 1% NGS, 0,1% TX-100 et PBS) selon l'espèce d'affinité de l'anticorps primaire, pendant 2 h à température ambiante. Suite à cette étape, il y eu l'incubation dans le réactif ABC (kit ABC Elite, Vector) pendant 2 h à température ambiante avant la détection avec une solution de DAB (Roche). Le marquage est possible grâce à la solution de DAB. Le substrat de la peroxydase est en présence dans le DAB. Lorsque le substrat a été clivé, un précipité marron se dépose à cet endroit. Ainsi la détection de la présence et de la localisation de protéine spécifique a été rendue possible. Par la suite, les sections ont été photographiées en utilisant un microscope Leica DM4000 et les sections ont été scannées dans leur entièreté à l'aide du Nanozoomer.

Tests olfactifs

Dans le test de la nourriture enfouie et du test de l'olfaction de l'habituation, ou non à une odeur, les souris ont été soumises à un jeûne alimentaire durant une nuit entière et changées de cage pour être dans des cages « Sealsafe Plus Mouse – mouse IVC Green Line ». Durant le jeûne, les animaux ont eu libre accès à de l'eau (WT femelle : n=10, WT mâle : n=11, YAC128 femelle : n=7, YAC128 mâle n=15).

Test de la nourriture enfouie

Dans le test de la nourriture enfouie (Yang & Crawley, 2009), suivant le test olfactif de l'habituation, ou non à une odeur, un morceau d'amande tamari (naturSource) d'environ 5mm par 5mm a été enfoui sous une couche de litière de 0,5 cm. Le temps de latence pour trouver la nourriture enfouie a été évalué et représente une mesure de la capacité olfactive. Les animaux contrôles, dont l'olfaction est normale, ont trouvé généralement la nourriture enfouie en quelques secondes, alors que les souris avec un dérèglement olfactif ont présenté une augmentation du temps de latence. La durée maximale autorisée pour trouver la nourriture enfouie a été de 5 minutes par animal.

Test olfaction de l'habituation ou non à une odeur

Ce test évalue si un animal a été capable de sentir et s'il a été capable de distinguer les mêmes odeurs et des odeurs différentes. Ce test olfactif (Yang & Crawley, 2009) consiste en une présentation séquentielle de différentes odeurs (Wesson *et al.*, 2010). Une phase d'acclimatation, de 15 minutes, a été fait entre chacun animal soumis à ce test. La séquence à laquelle les animaux ont été soumis est : essence d'amande pur (Club house), essence de

banane, litière de même sexe, litière de sexe opposée et de l'eau. Cette séquence consiste à une exposition à des odeurs non sociales, puis à des odeurs sociales. L'eau a été le contrôle négatif dans ce test. Chaque stimulus olfactif a été présenté en trois essais consécutifs, d'une durée de 2 minutes, à l'aide d'un cure-oreille. L'intervalle de repos entre chaque essai a été de 1 minute. Une habituation a été définie par une diminution progressive de renifler, lors d'une présentation répétée d'un même stimulus olfactif. La litière utilisée dans ce test provient de cage de souris qui n'a pas été changée depuis au moins 24 heures. Les analyses du test olfactif incluent les différences lors d'une première exposition à une odeur, la différence entre les expositions aux odeurs (Wesson *et al.*, 2010).

Volume et compte neuronaux

Les résultats qui présentent des volumes dans ce document ont tous été fait par l'Université de la Colombie-Britannique suivant leur protocole expérimental et éthique. L'ensemble des analyses ont été faites à l'aveugle et dans le respect des génotypes sur des mâles et des femelles. Brièvement, les souris ont été pesées, puis anesthésiée par injection intrapéritonéale de 2,5% Avertine et perfusées avec un mélange à base de PBS, fait de paraformaldéhyde 3% et de glutaraldéhyde 0,15%. Les cerveaux de souris ont été entreposés pour une durée de 24 h dans du paraformaldéhyde 3% à 4°C. Par la suite, les cerveaux ont été entreposés dans une solution physiologique (PBS) avec azoture. Ensuite, les cerveaux de souris ont été coupés au vibratome en coupe coronale d'une épaisseur de 25 µm. Les sections de cerveau ont été prélevées à une distance de 200 µm pour un immuno-essai avec NeuN (dilution 1:1000, Chemicon, Temecula, CA). L'anticorps secondaire biotinylé (Vector) a été utilisé avec une dilution 1:1000 afin de permettre le signal d'amplification avec le kit ABC Elite (Vector), la détection du signal a été possible grâce au trempage dans le DAB (Pierce, Rockford, IL). Le périmètre des cortex piriforme (PC) ou du tubercule olfactif (OT) de chacune des sections a été défini à l'aide du logiciel Stereo Investigator 10 (MicroBrightfield, Williston, VT, USA). Le volume a été déterminé par l'utilisation du principe de Cavalieri, les aires de chaque PC ou OT ont été additionnées et multipliées par l'épaisseur de la section (25 microns) et les intervalles de prélèvement des sections (toutes les 8 sections) ont été considérées, cette méthode a été décrite précédemment (Van Raamsdonk *et al.* 2005). L'aire des sections accompagnée du profil de neurone a été déterminée dans un périmètre clairement défini de 50 µm x 50 µm, inclus dans un quadrillage de 450 µm x 450 µm. Les neurones présents dans

ce périmètre ont été dénombrés. Le profil neuronal a été déterminé en utilisant un objectif de 100x. Une correspondance anatomique a été faite sur des sections de cerveau de coupe coronale.

Analyses statistiques

Les tests de Student (t-tests), les analyses de la variance (ANOVAs à une ou deux voies) et les tests de comparaisons multiples (post-hoc de Tukey's) ont été utilisés pour l'analyse entre les groupes de génotypes, de sexe et de l'âge. L'analyse double permet de mettre en évidence les différences de variance lorsqu'il y a présence d'interaction entre les variables. Une interaction a permis de mettre en évidence la dépendance des variables l'une par rapport aux autres, le génotype étant dans tous les cas un facteur fixe. Lorsque la valeur de p de l'interaction est significative, les sous-groupes peuvent être analysés et être performant pour être analysé individuellement et utilisé en comparaison multiple. Dans tous les cas, la signification statistique a été établie à 0,05 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$). Le logiciel GraphPad Prism 6.0 a été utilisé pour toutes les analyses statistiques. L'analyse Sholl a été utilisée pour des cellules microgliales. Cette analyse se base sur des schémas d'arborisation dendritique neuronale. L'analyse se définit par la valeur critique du rayon du cercle et le nombre maximum d'intersections dendritiques avec les cercles.

RÉSULTATS

Entre l'humain et le modèle murin de la MH YAC128, il y a des aires et des régions recensées correspondantes qui sont hâtivement affectées dans la MH (Rosas *et al.*, 2003, Carroll *et al.*, 2011). L'étude de plusieurs structures cérébrales, incluant les structures du système olfactif chez le rongeur, est une excellente représentation des études chez l'humain tout en nous permettant d'explorer les mécanismes du déclin olfactif plus en détail.

Tel qu'expliqué précédemment, dans certaines maladies neurodégénératives différentes structures essentielles au système olfactif chez l'humain subissent un dérèglement, une variation de leurs poids ou bien une atrophie de leurs volumes. Nous avons tout d'abord voulu valider notre modèle de la MH, afin de déterminer s'il possède un dérèglement olfactif et, le cas échéant, déterminer le moment où il survient et les mécanismes sous-jacents à ce dérèglement. Pour ce faire, différentes avenues sont investiguées par rapport au dérèglement du système olfactif tel : la neurogenèse, la neuroinflammation et l'activation de caspases susceptibles de mener à l'apoptose. Ces orientations vont permettre de mieux appréhender les perceptives du projet.

De plus, considérant que tous les modèles possèdent leurs lacunes, nous avons voulu contre-vérifier certains résultats dans un autre modèle animal, soit, les BACHD.

Mesure du bulbe olfactif, du cortex piriforme et du tubercule olfactif des YAC128

Effet de l'âge sur le poids de bulbe olfactif de souris modèle de la MH

Une tendance pour une augmentation du poids des BO entre 3 mois et 12 mois a été observé dans les YAC128 et les contrôles (figure 4A). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les poids des BO contrôles et celui des BO YAC128 du même âge à 3 mois et à 12 mois. Ces variables semblent indépendantes l'une de l'autre, car l'interaction ($p=0,58$) entre le génotype et l'âge influencerait seulement 0,21% de la variation totale. Cependant le génotype à lui seule influence pour 13,55% de la variance totale. Malgré cette faible interaction entre les variables entre 3 mois et 12 mois d'âge une augmentation de 15

% du poids de BO dans les WT et de 12 % dans les YAC128 est observée entre 3 mois et 12 mois (P âge < 0,0001). Selon ces résultats, l'âge a une incidence plus importante que le génotype pour faire fluctuer le poids des BO.

Diminution du volume et du compte neuronales dans le cortex piriforme de YAC128.

Pour mieux mieux cerner différents enjeux entourant le modèle murin YAC128, le volume du cortex piriforme (PC) et du tubercule olfactif (OT) ont été analysées. Ces structures sont susceptibles d'être influencé dans le dysfonctionnement olfactif observé dans la MH. Il a été observé que le volume du PC avait une tendance à être plus petit de 7 % dans les YAC128 lorsque comparé au WT (t-test : $p=0,0586$) (figure 4C). En plus, dans les souris de la MH, YAC128 de 12 mois, une diminution significative de 19% du nombre de neurones a été répertoriés dans le PC lorsque comparé au contrôle (t-test: $p = 0,003$) (figure 4D). Le volume du OT des souris contrôles et des YAC128 de 12 mois, ne présente pas de différence significative (t-test: $p = 0,770$) (figure 4B).

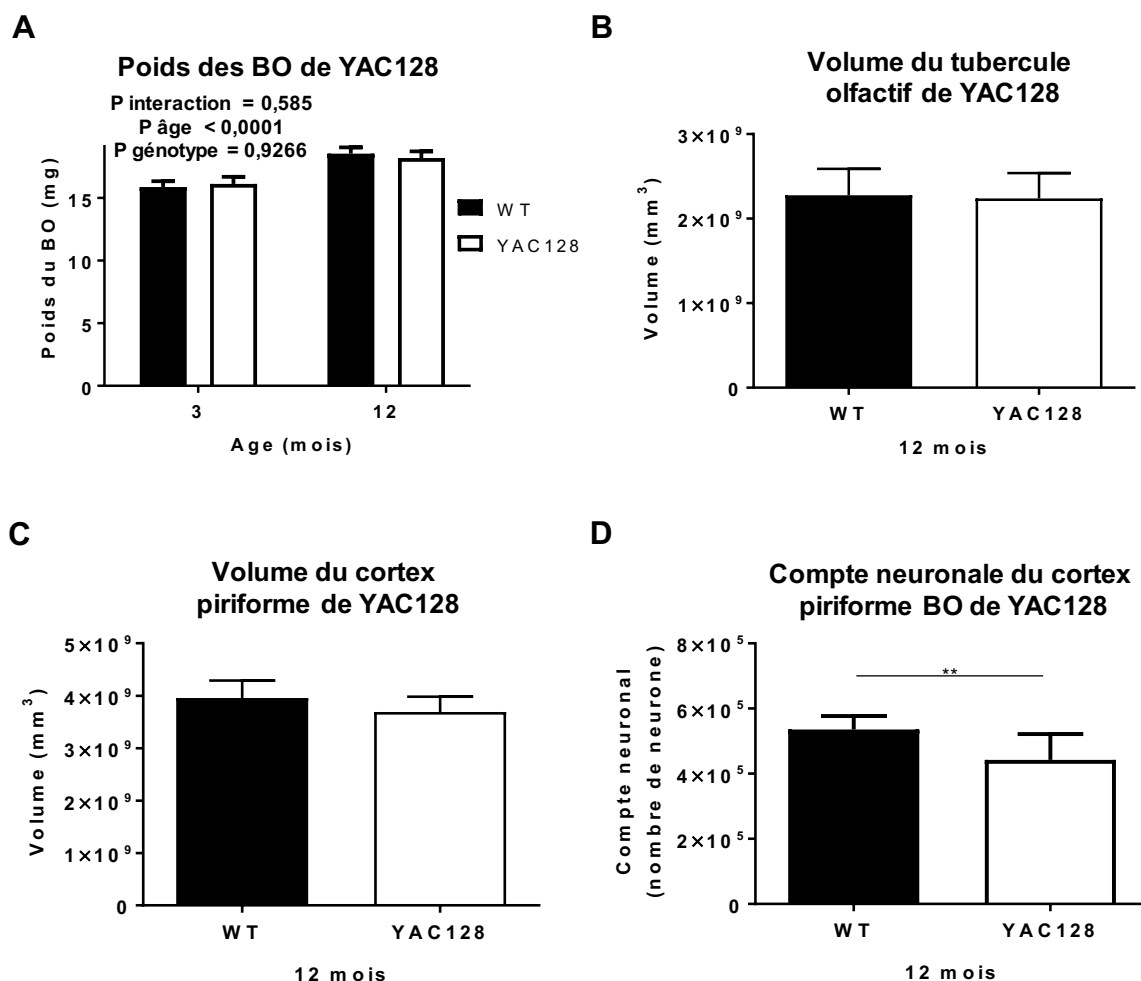


Figure 4. Diminution du volume et du compte neuronales dans le cortex piriforme des YAC128

A) Une tendance pour une augmentation du poids des BO à 12 mois vs 3 mois dans WT et YAC128 a été observée (n=24 WT 3 mois, n=42 WT 12 mois; n=24 YAC128 3 mois, n=36 YAC128 12 mois). Dans les structures corticales olfactives investiguées, **B)** Le volume du OT ne démontre guère de différence significative entre les WT vs YAC128 (n=14 WT; n=12 YAC128). Il y a une tendance pour une diminution **C)** du volume et pour une diminution **D)** du compte neuronal dans le PC des YAC128 de 12 mois vs WT (volume : t-test: p=0,0586; compte neuronal: t-test: p=0,003; n=4 WT; n=12 YAC128). Barre d'erreur: SEM.

Augmentation du temps de latence des YAC128 pour l'habituation à une odeur

Le temps d'investigation passée sur une odeur dite sociale (litière de même sexe ou de sexe opposé) ou non-sociale (essence d'amande ou de banane) lors d'une première exposition ont

été exploré pour déterminer si le modèle murin de la MH, présente un dérèglement et si ce dérèglement est présent dès l'âge de 1 mois.

Lors de l'investigation contrôle (eau) les souris mâles et femelles ont passé en moyenne 40 secondes à investiguer l'eau. Il n'y avait pas d'interaction entre le sexe et le génotype (P interaction = 0,41) pour les temps d'investigation à une odeur (figure 5A). Une absence interaction (P interaction = 0,76) significative été observé dans l'analyse du temps d'investigation des femelles lors de l'exposition aux odeurs sociales et non-sociale (figure 5C), mais la nature du génotype (P génotype = 0,036) est à considérer lors de l'exposition à ces odeurs. L'interaction entre ces variables influencerait seulement 0,08% de la variance totale. Il est intéressant de souligner que la variable odeur pris indépendamment des autres variables influencerait 37,8% le temps d'investigation. L'analyse du temps d'investigation lors de l'exposition aux odeurs sociales et non-sociale des mâles de 1 mois (figure 5D) ont une tendance pour avoir une interaction (P interaction = 0,067) entre les variables comparativement aux femelles. Une tendance à l'augmentation du temps d'investigation est observé entre le temps d'investigation des odeurs non-sociale et sociale de 64% pour les femelles WT, 48% pour les femelles YAC128, 70% pour les mâles WT et 45% pour les mâles YAC128. Une tendance vers une augmentation du temps d'investigation est aussi observée pour les odeurs non-social (28%) et sociale (12%) pour les femelles YAC128 comparativement au WT. Cette même tendance vers une augmentation du temps d'investigation a aussi été observé pour les odeurs non-social (21 %) et sociale (6 %) chez les mâles YAC128 comparativement au WT.

Au test d'habituation ou non à une odeur dans lequel l'animal est exposé aux différentes odeurs à 3 reprises, l'expositions contrôle (eau), ne présente aucune variation associée au génotype n'est observé avec l'exposition contrôle (P interaction = 0,76) du temps d'investigation associé aux variables du nombres d'expositions à l'eau et du génotype observé (figure 5E). Dans le contrôle, une tendance pour une diminution du tiers du temps d'investigation est observé entre les WT et les YAC128 lors de la première exposition et des exposition deux (2) et trois (3). Le temps d'investigation lors de l'exposition aux odeurs tend

à diminuer du tiers chez les WT entre les expositions un et deux ainsi qu'entre un et trois. Chez les YAC128, une tendance pour une baisse de 53% a observé entre les expositions 1 vs. 2 et de 43% à l'exposition 1 vs. 3. Lorsque tous les odeurs sont analysées, bien qu'aucune interaction (P interaction = 0,18) ou d'effet du génotype ne soient significative, le nombre d'exposition augmente de 53,1% la variance totale, alors que dans l'exposition contrôle, le nombre d'exposition influençait la variance totale de seulement 23,6 % (figure 5F) . Dans le même ordre d'idée, dans l'exposition contrôle, la variable génotype a une influence minime (0,11%) sur la variance totale, alors que dans le test fait avec les odeurs, cette valeur grimpe à 5,84 %. Dans ce test, les YAC128 tendent à investiguer plus longtemps (2 %, 8,8% et 5,4 %) lors de la première, deuxième et troisième exposition lorsque comparé au WT. Une tendance pour une diminution supérieure au tiers du temps d'investigation lors de l'exposition aux odeurs est aussi observée pour les WT entre les expositions 1 et 2 et 1 et 3. Les YAC128 présente cette même tendance.

Ensuite, le calcul de l'indice croisé a été utilisé afin de mettre en évidence la différence du temps d'exploration au test d'habituation entre la première et la dernière exposition à une odeur. Tel que présenté à la figure 5B, aucune différence significative (t-test $p = 0,39$) de l'indice croisé n'est détectée entre les génotypes (figure 5B).

Investigation du dérèglement olfactif de YAC128 à 1 mois

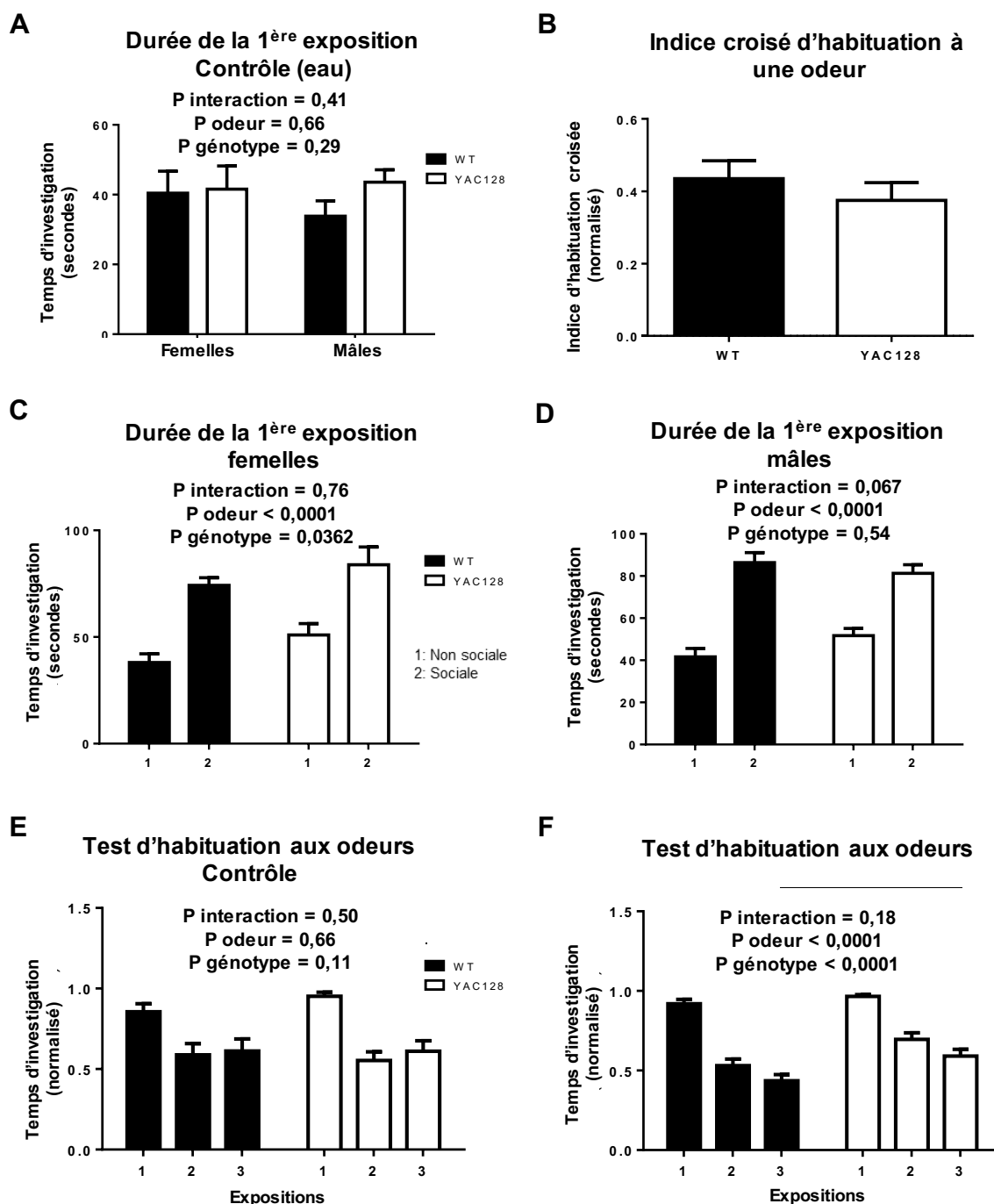


Figure 5. Diminution de la capacité olfactive des YAC128 de 1 mois

Le temps d'investigation d'odeurs lors de leur 1^{ère} exposition démontre **A)** les particularités du contrôle à considérer pour sa validité. **B)** Dans l'indice d'habituation à une odeur, la différence entre les génotypes n'est guère significative, mais surtout **B**, **C**, **D)** une augmentation du temps d'investigation entre les types d'odeurs sociale (litière de même sexe et de sexe opposée) vs odeurs non-sociale (essence de banane et d'amande). Le test

d'habituation aux odeurs a démontré **E, F**) une tendance pour une variabilité entre les expositions 1 et 2 et les expositions 1 et 3 dans le test fait avec les odeurs lorsque comparé au contrôle (eau). Barres d'erreurs : SEM, Âges des souris=1 mois, sexe : mâles et femelles. n=10 WT femelles, n=11 WT mâles; n=7 YAC128 femelles, n=15 YAC128 mâles)

Neurogenèse au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128.

Dans la section précédente, nous avons remarqué que les YAC128 possèdent un dérèglement du système olfactif. Nous avons donc, voulu explorer afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents au déficit olfactif et dans la neurogenèse.

Le niveau d'expression en ARNm de NeuroD ne présente pas de différences entre les génotypes à 3 mois (figure 6A), mais une tendance a été observée vers une diminution à 12 mois dans les YAC128 lorsque comparé au WT (t test $p = 0,0854$) (figure 6B).

L'analyse de l'expression de l'ARNm d'ApoE, facteur impliqué dans le maintien des astrocytes, dans le bulbes olfactifs (BO) a permis de révéler une tendance vers une augmentation de l'ARNm dans notre modèle de la MH, les YAC128, de 12 mois (t-test $p=0,0587$) (figure 6D). Toutefois, comme avec le niveau d'expression de NeuroD (figure 6A), l'analyse de l'expression de l'ARNm d'ApoE n'a guère de différence significative à 3 mois entre les WT et les YAC128 (figure 6C). Il est toutefois intéressant de souligner que dans les YAC128 une plus grande variabilité est observée dans l'expression de l'ARNm d'ApoE comparée au WT de même âge (figure 6C, D).

Une diminution de l'intensité réciproque de l'immunomarquage du nucléole de neurones matures (NeuN) a été observé dans les BO à 12 mois chez les souris modèles de la MH, YAC128, lorsque comparé au WT (figure 6E). La densité de l'immunomarquage de la TH, une sous-division de cellules périglomérulaire (GPC) et un sous-type d'interneurone, ne présente pas de différences entre les individus contrôles et les YAC128 qualitativement (figure 6F). Cependant, l'intensité réciproque de TH (figure 6I) augmente dans les couches périphériques (GL et EPL) du BO (P couche BO $< 0,0001$) et présente une différence entre les génotypes (P génotype = 0,0316; t test $p < 0,01$). L'immunomarquage de TH dans les différentes couches du BO est étroitement associé aux génotypes (P interaction = 0,0071) L'immunomarquage de la protéine Dcx, protéine associée aux microtubules exprimée par

des précurseurs neuronaux et par les neurones immatures, laisse croire qu'il y aurait une densité d'immunomarquage qui serait supérieur dans les YAC128 comparativement au WT de 12 mois dans la couche de cellules granulaires (GC) et des axones de cellules mitrales du BO (figure 6F, G). De plus, la surface marquée par Dcx présente une différence morphologique et une répartition des cellules immunomarquées différente par leur présence dans les couches de cellule mitrale et plexiforme interne (GCL) dans les BO de YAC128 de 12 mois comparé au WT du même âge. Un dénombrement du marquage Dcx dans le BO ne démontre pas que différences significatives en nombre entre les YAC128 et les WT (figure 6H).

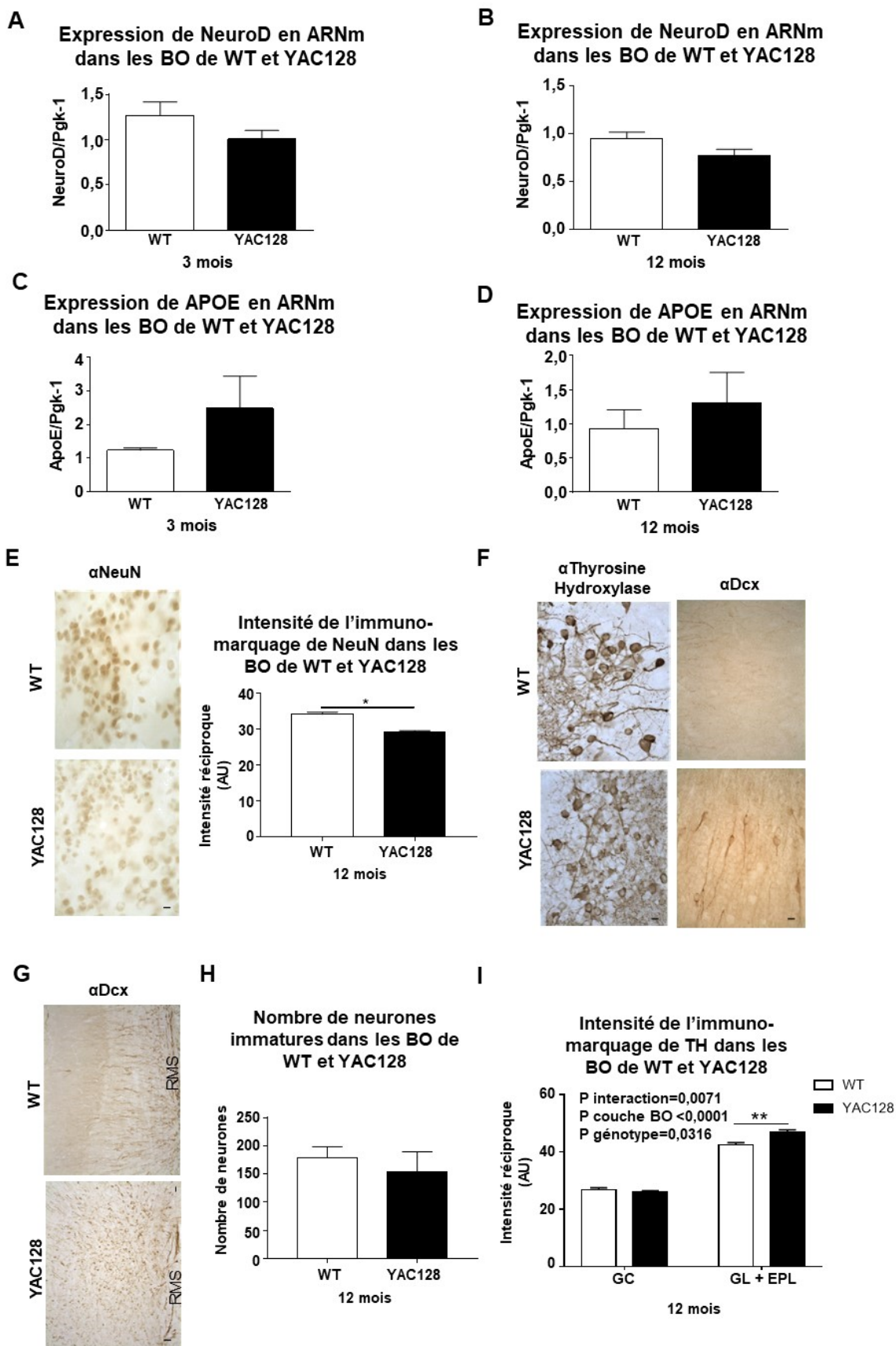


Figure 6. Altération de marqueur de la neurogenèse du modèle de souris de la MH, YAC128

Dans le BO, le niveau d'expression en ARNm observée dans NeuroD, marqueur de la prolifération neuronale **A**) ne présente pas de différence significative à 3 mois, **B**) mais une tendance vers une diminution à 12 mois entre les YAC128 vs WT (t test: $p=0,085$; Barre d'erreur: SEM). En ce qui concerne, le niveau d'expression en ARNm observée avec le marqueur ApoE, qui est entre autres impliqué dans le maintien des astrocytes, **C**) aucune différence significative a été observé entre les génotypes à 3 mois, mais **D**) une tendance vers une augmentation a été observée dans les souris YAC128 de 12 mois vs WT (t test: $p=0,0587$; Barre d'erreur: SEM). **E**) Une modulation du niveau d'intensité réciproque de immunomarquage positif de NeuN est détecté dans les BO de 12 mois de YAC128 lorsque comparé au contrôle. **F**) La présence double-cortine (Dcx), semble être augmentée dans les GC et axonales des cellules mitrales dans les YAC128 vs WT du BO de 12 mois (Grossissement: 60x). **G**) La morphologie occupée par Dcx, correspondent à la couche granulaire et des axones de cellules mitrales du BO, semble être différente dans les YAC128 vs WT 12 mois (Grossissement: 20x). Mais, **H**) le nombre de neurones immatures immunomarké semblent être équivalent dans les WT et les YAC128. **F**) Aucune différence a été noté entre le nombre de cellules immuno-positives lors du marquage à la tyrosine hydroxylase (TH) entre les BO de souris WT et les YAC128. **I**) Par contre, une hausse de l'intensité réciproque de l'immunomarquage de la TH a été observé dans les YAC128 lorsque comparé au WT dans les aires de la couche glomérulaire (GL) et de la couche plexiforme externe (EPL). **E, F**) Barre d'échelle=10 μ m, **G**) Barre d'échelle=30 μ m, **A à I**) Âges des souris=12 mois, n=3souris / génotype.

Neuroinflammation au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128

Dans les bulbes olfactifs (BO) du modèle de souris, YAC128 de 12 mois, une augmentation de l'immunomarquage de Iba-1, marqueur de microglie a été remarqué au stade postsymptomatique (figure 7A). Il est intéressant de souligner qu'une tendance pour une diminution de 24% a été observé dans les YAC128 lorsque comparé au WT dans les cellules granulaires (GC) du BO, mais qu'il ne semble pas avoir de variation dans le nombre de microglies dans les couches glomérulaires (GL) et plexiforme externe (EPL) du BO lorsque les WT et les YAC128 ont été comparé (figure 7B). La figure 7C a été créée par une analyse de Sholl qui a permis de mettre en valeur le nombre d'embranchement présent sur le soma. La longueur des embranchements est exprimée en distance par rapport au soma. Il a été observé que les YAC128 ont plus de projection que les WT (P génotype=0,04). Cette différence est aussi observée loin du soma (P distance <0,0001), suggérant que la différence est présente plus au niveau des projections secondaires et tertiaires. Plus les ramifications

sont éloignées du soma et plus la tendance s'inverse, ce sont les WT qui présente peu de longue ramification comparativement au YAC128. L'aire totale des somas des microglies ont une tendance à diminuer seulement de 8% dans les YAC128 comparative au WT (figure 7D).

La zone immunomarquée par la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) semble présenter une morphologie différente de la GC dans les YAC128 de 12 mois comparé aux WT (figure 7E). Il a été observé que l'intensité réciproque du marquage de GFAP présente une tendance pour une augmentation d'environ un dixième dans les YAC128 comparativement au WT et ce, dans les couches GC et dans les couches GL et EPL (figure 7F). L'expression de GFAP, marqueur astrocytaire qui joue un rôle de support à la migration de neuroblaste dans le flux rostral migratoire lors de la neurogenèse et de la gliose qui consiste à la prolifération des cellules gliales qui constituent le tissu de soutien du système nerveux central en lien avec l'inflammation au cours du processus neurodégénératif. Cependant, le mécanisme moléculaire derrière l'expression de GFAP dans les astrocytes est mal compris. La tendance à la hausse dans les YAC128 suggère une augmentation des mécanismes de la neuroinflammation et de la neurogenèse dans ce modèle de la MH.

Nous avons remarqué que les YAC128 possèdent des déficits olfactifs et que les altérations dans les processus inflammatoires et de la neurogenèse observé dans les BO des YAC128 pourrait être impliqué dans ce déficit. Nous avons alors voulu investiguer un autre facteur important dans la neurogenèse et l'équilibre entre la survie et la mort neuronale, les caspases.

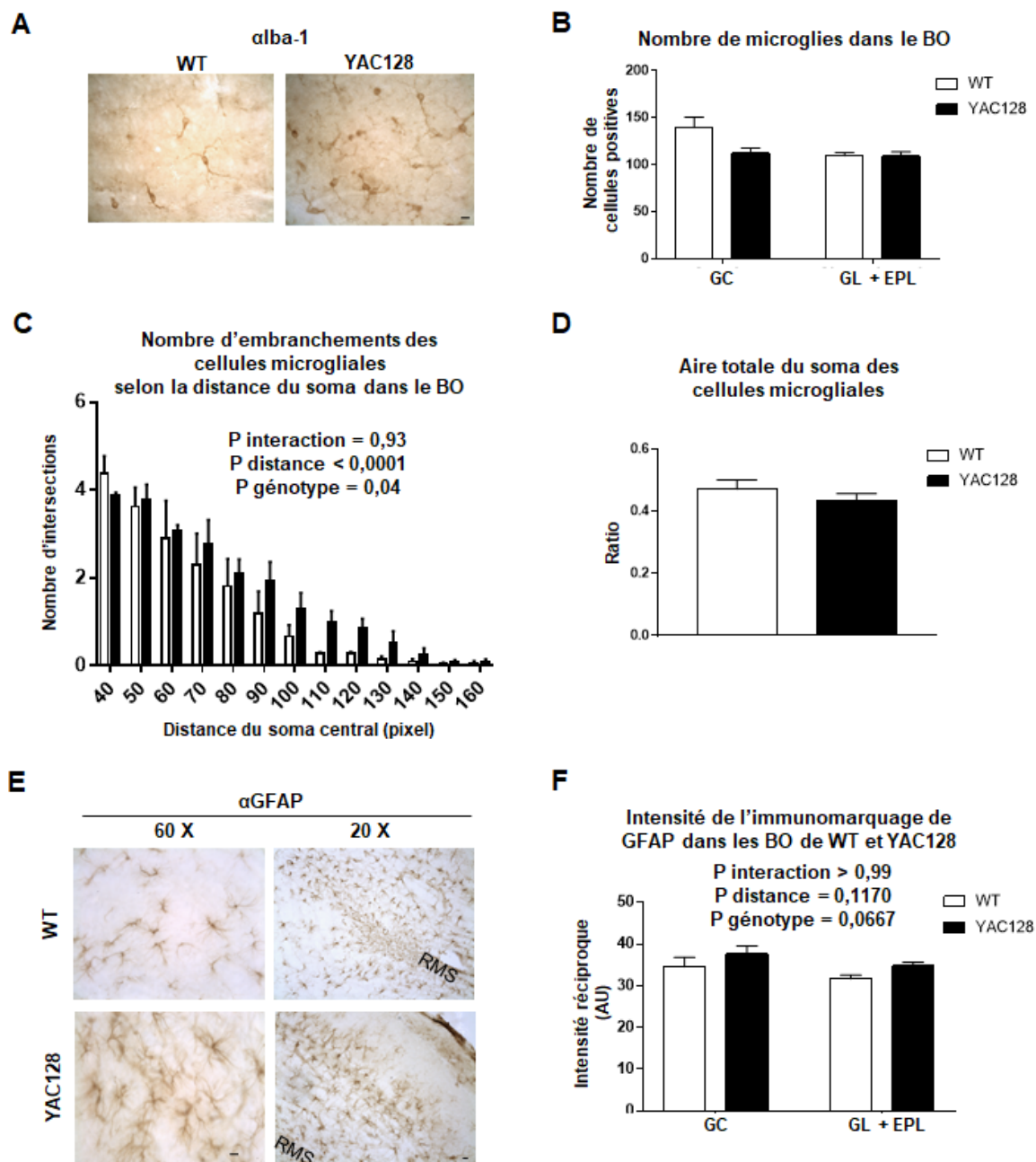


Figure 7. Augmentation de marqueurs de la neuroinflammation au stade postsymptomatique de YAC128

A) La présence de Iba-1, semble être augmentée dans les GC et les axones des cellules mitrales dans les YAC128 vs WT du BO de 12 mois (Grossissement : 60x). Cependant, B) le nombre de microglies dans la couche granulaire (GC) versus les couches glomérulaires et du plexiforme externe (GL + EPL) ne semble pas de différence significative entre les WT et

les YAC128 de 12 mois. **C)** Le nombre d'embranchement des cellules microgliales présente un effet de la distance du soma centrale ($p < 0,0001$) et un effet du génotype ($p = 0,04$), mais il n'y aurait pas d'interaction entre ces variables. Par contre, **D)** l'aire totale du soma des microglies ne présente pas de différence significative. **E)** Une morphologie des cellules gliales et les couches occupée par GFAP, correspondent à la couche granulaire, à la couche des axones de cellules mitrales du BO et à la couche du plexiforme interne dans les YAC128 de 12 mois comparative uniquement la couche GC occupé par ce marqueur dans les WT (Grossissement : 20x). Cependant, **F)** il ne semble pas y avoir de différences significatives entre les WT et les YAC128 lorsqu'il y a dénombrement dans les différentes couches granulaire (GC), glomérulaire et plexiforme externe (GL + EPL), Âges des souris=12 mois, n=3 souris/génotype, sexe : mâles, Grossissement : 60x = 10um et 20x = 30um.

Profil des niveaux d'expression de caspases dans le bulbe olfactif de YAC128

Tel qu'expliqué plutôt dans l'introduction, les caspases ont des rôles et fonctions à jouer dans l'apoptose, la neurogenèse et la neuroinflammation. Nous avons donc voulu investiguer le profil d'expression en ARN et en protéine de différentes caspases pour mieux comprendre leur implication dans le bulbes olfactifs (BO).

Altération hâtive de l'expression de la caspase-3, dans le BO de souris YAC128

À 3 mois, une diminution significative du niveau d'expression en ARNm de caspase-3 a été observée dans les bulbes olfactifs (BO) de souris modèles de la MH, YAC128, lorsque comparé aux souris de type sauvage (t-test : $p = 0,0113$) (figure 8A). Tandis qu'à 12 mois, l'expression en ARNm de caspase-3 de YAC128 est comparable au WT (figure 8B). Par contre, la diminution en ARNm observé chez les YAC128 de 3 mois ne se reflète pas au niveau protéique, aucune différence de l'expression de la proforme et la forme active de caspase-3 n'a été détectée (figure 8C). L'absence de variation dans les niveaux protéiques de caspase-3 entre les WT et les YAC128 à 3 mois alors que les niveaux en ARNm soient plus bas dans les YAC128 comparativement au WT du même âge pourrait suggérer une diminution de la dégradation de cette caspase chez les YAC128. Il se pourrait aussi qu'il s'agisse de l'effet neuroprotecteur de caspase-3, discuté dans l'introduction, se produisant chez les YAC128, dans lequel les cellules essaient de faire face au stress et de diminuer caspase-3 à ce jeune âge.

Hausse de l'expression de caspases : Caspase-8, -9 et caspase-6

De façon similaire à caspase-3, une diminution du niveau d'expression en ARNm de caspase-8 a été observé à 3 mois dans les bulbes olfactifs (BO) des YAC128 lorsque comparé au WT

(t-test : $p=0,0170$) (figure 8G). Cependant, une augmentation de l'ARNm a été observé à 12 mois dans les YAC128 lorsque comparé au WT (t-test: $p=0,0144$) (figure 8H). Au niveau protéique, les niveaux d'expression de la forme pleine longueur et de la forme active de caspase-8 sont augmentés dans les BO des YAC128, lorsque comparés au contrôle de 3 mois (proforme: t-test: $p<0,01$; p43/41, $p<0,01$; p18, $p<0,01$) (figure 8I). Ces résultats pourraient être expliqué par un mécanisme similaire déjà observé dans la mort neuronale par apoptose dans la MH, via Hip-1 (Gervais *et al.*, 2002). En réponse à des niveaux d'expression de transcription en ARNm moins élevé à 3 mois, le mécanisme de traduction pourrait être plus élevée et ainsi générer un effet de compensation. Davantage de procaspase-8 se feraient cliver pour induire son activation et ainsi la cellule chercherait à traduire davantage de procaspase-8 pour le maintien homéostatique cellulaire. L'immunomarquage de la caspase-8 active à 12 mois est augmenté dans la couche de cellules granulaires (GC) et dans la couche plexiforme externe (EPL) du BO chez les YAC128 (figure 9C).

L'expression protéique de la forme longue de caspase-6 à 3 mois ne présente aucune différence significative entre les WT et les YAC128. Cependant, en ce qui concerne la forme active, une augmentation dans les YAC128 a été observé lorsque comparé au WT (t-test: $p<0,05$) (figure 8F). Tout comme avec caspase 3, il est possible que la demi-vie de caspase-6 soit rallongé, quel soit de plus longue durée et/ou qu'elle soit moins dégradée.

Dans le BO, l'expression de l'ARNm de caspase-9 tends à être inférieur à 3 mois chez les YAC128 comparativement au WT (t-test : $p=0,0623$) (figure 8J). De façon similaire, une diminution significative du niveau d'expression en ARNm est observée dans les YAC128 de 12 mois lorsque comparé au WT du même âge (t-test : $p<0,05$) (figure 8K). Le niveau d'expression de la proforme de caspase-9 ne présente pas de différence significative entre les WT et les YAC128 de 3 mois (figure 8L).

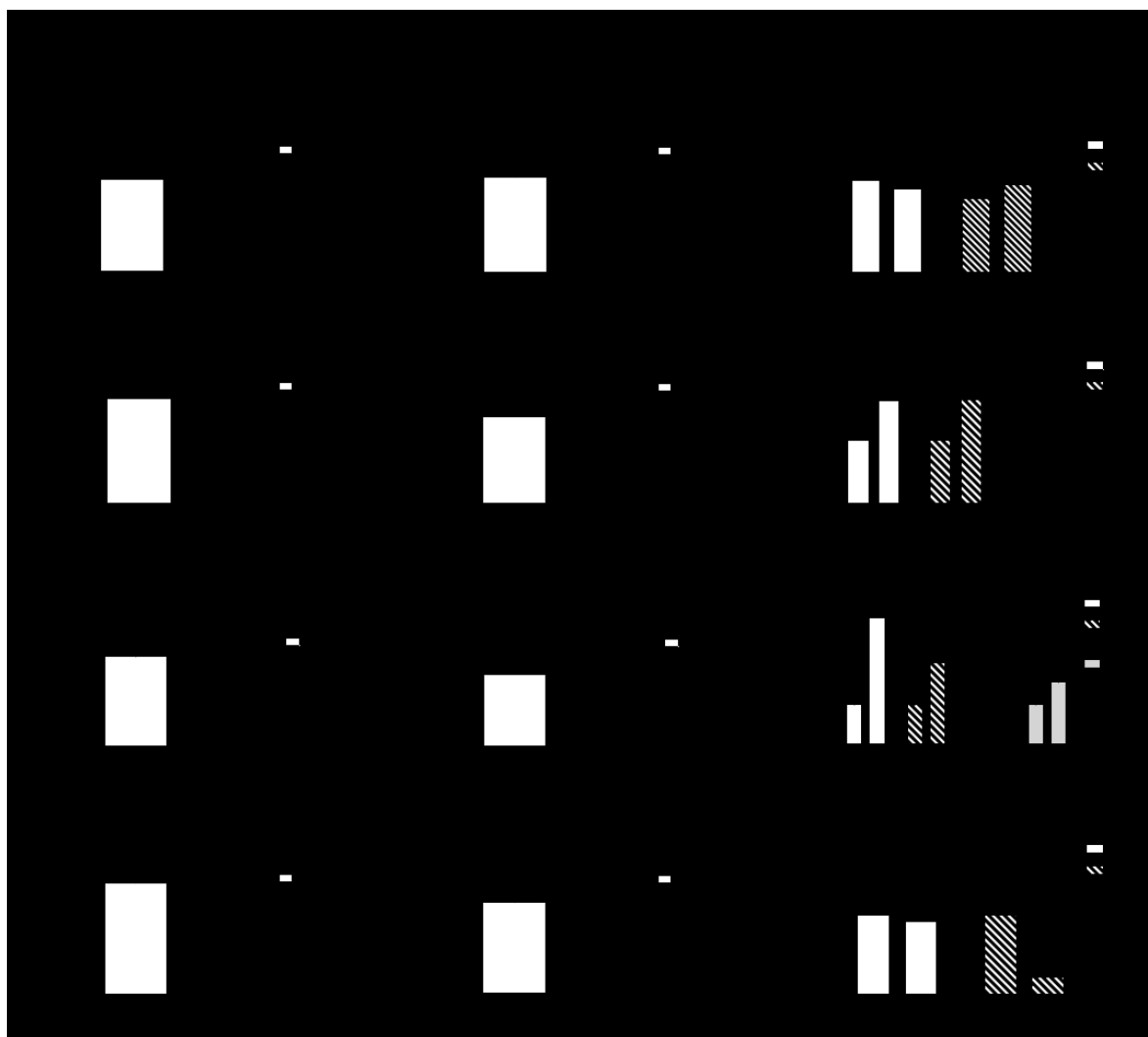


Figure 8. Diminution des niveaux expressions en ARNm, mais augmentation des niveaux d'expressions protéiques de caspases dans le BO de souris YAC128 présymptomatique.

Le niveau d'expression en ARNm de la **A)** caspase-3 présente une diminution à 3 mois dans les YAC128 vs WT (n=11 WT; n=8 YAC128), **B)** mais il a été observé qu'à 12 mois les niveaux d'expression se stabilisent chez les WT et les YAC128 (n=8 WT; n=7 YAC128). L'expression protéique de caspase-3, tant **C)** de la forme longue (proforme) que du **D)** fragment ne présentent pas de variation significative dans le BO de 3 mois (n=9 WT ; n=9 YAC128). Le niveau d'expression en ARNm de la **G)** caspase-8 présente une diminution à 3 mois dans les YAC128 vs WT (n=11 WT; n=7 YAC128), **H)** mais on observe à 12 mois une augmentation dans les YAC128 vs WT (n=8 WT; n=8 YAC128). **I)** L'augmentation des formes protéiques de caspase-8 (proforme et fragment actif, p18) ont été observée dans les BO de YAC128 vs WT de 3 mois (WT n=6, YAC128 n=6). **D, E)** Les niveaux d'expression en ARNm de caspase-6 de BO de 3 mois et de 12 mois sont stables (3 mois : n=11 WT; n=7 YAC128; 12 mois: n=8 WT; n=8 YAC128), **F)** mais une augmentation de la forme active p15 de la caspase-6 est observé (n=6 WT; n=6 YAC128). **M)** Le niveau d'expression en ARNm de caspase-9 à 3 mois présente une tendance à la baisse chez les YAC128 vs WT

(n=11 WT; n=7 YAC128), mais **N**) une diminution dans les YAC128 vs WT a été observé à 12 mois (n=8 WT; n=7 YAC128). **O**) L'expression protéique de la proforme de caspase-9 à 2-3 mois ne présente pas de différence significative (n=3 WT, n=3 YAC128). Barre d'erreur : SEM.

L'immunomarquage de la caspase-6 active à 12 mois semble être augmenté dans le bulbe olfactif (BO), le cortex piriforme (PC) et le cortex entorhinal (LEA) de YAC128 (figure 9A). Bien qu'un marquage axonal soit observé dans toutes les régions cérébrales, le marquage dans le BO est principalement axonal lorsque comparé au PC et EC. Une confirmation de l'augmentation de l'expression de la caspase-6 active au niveau du PC et EC a été possible par l'immunomarquage de l'un de ces substrats : tau clivé par caspase-6 (figure 9B) et au niveau du BO à l'aide de l'immunomarquage de deux substrats : tau clivé par caspase-6 (figure 9-B) et APP clivé par caspase-6 (figure 9D). Caspase-6 active dans le BO semble être exprimé dans l'ensemble des différentes couches qui le composent.

De façon similaire à ce qui a été observé au niveau protéique à 2-3 mois, une augmentation de l'immunomarquage de la forme active de caspase-6 et de caspase-8 ont été observé dans les YAC128 postsymptomatique (Tableau supplémentaire 1).

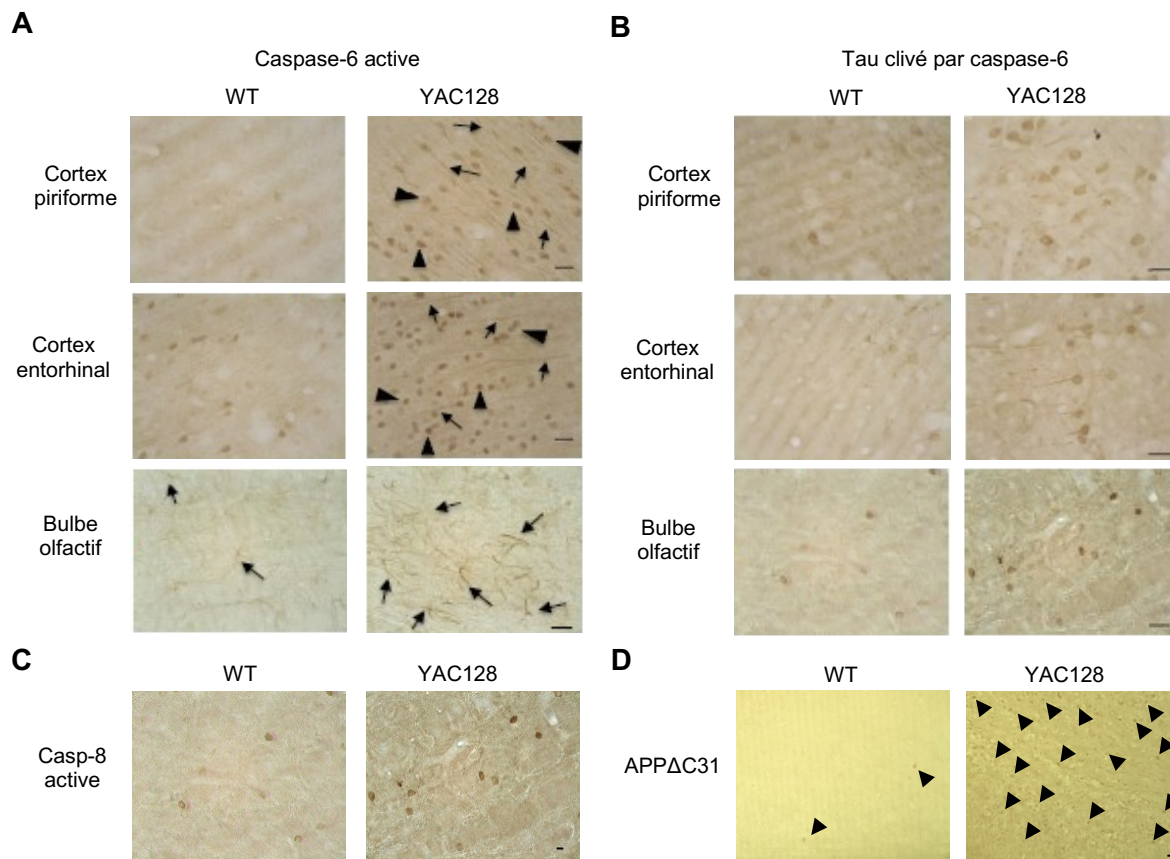


Figure 9. Augmentation des caspases actives et des niveaux d'expression protéiques des substrats clivés par les caspases dans le bulbe olfactif de souris YAC128 postsymptomatique.

A) Une augmentation de la caspase-6 active dans le cortex olfactif, qui regroupe les régions du PC, du LEA et des BO, a été observée par le marquage neuronal et axonal. L'augmentation de la caspase-6 active a été majoritairement observée dans les YAC128 par rapport au WT de 12 mois B, D) Tau et la protéine APP sont des substrats de la caspase-6, ces anticorps primaires sont utilisés pour détecter les fragments issus du clivage par cette caspase. Le clivage de ces substrats a été observé en abondance dans le PC et dans le LEA des souris YAC128, lorsque comparé aux souris WT de 12 mois. C) Le marquage de la caspase-8 active dans le modèle de souris de la MH, YAC128, présente une expression accrue, comparée au WT dans le BO. Barre d'échelle = 10 μ m, WT = type sauvage, contrôle, sexe : mâles.

Mesure du bulbes olfactifs, du cortex piriforme et du tubercule olfactif des BACHD

Le modèle BACHD a été utilisé dans le but d'avoir un outil de comparaison sur les niveaux d'expression des caspases dans les bulbes olfactifs (BO).

Diminution du poids des bulbes olfactifs de BACHD rat

Le poids des bulbes olfactifs (BO) des deux lignées de BACHD (TG5 et TG9), rat modèle de la MH, diminue comparativement au contrôle à 6 mois. Cependant, le poids du BO des TG5 et des TG9 à 3 mois ne varie pas significativement lorsque comparé au contrôle (figure 10A). Il est aussi intéressant de souligner que le poids des WT entre 3 mois et 6 mois augmente (t-test : $p=0,0003$), contrairement au poids des BO de lignée BACHD (figure 10A).

Diminution du volume du cortex piriforme à 12 mois de BACHD souris

Afin de mieux cerner différents enjeux entourant le modèle de souris de la MH, BACHD, des mesures de volume du cortex piriforme (PC) et du tubercule olfactif (OT) ont été prises. Ces structures sont susceptibles d'être influencées dans le dérèglement olfactif observé dans la MH. Nos résultats révèlent qu'il n'y aurait pas de différence significative au niveau du volume du OT (figure 10B) et du compte neuronal dans le PC (figure 10D) répertoriées entre les sujets contrôles et le modèle de souris BACHD de 12 mois. Cependant, il y aurait une différence significative entre les volumes du PC de ces souris modèles de la MH et de leur contrôle. Le volume du PC dans les BACHD serait plus petit que celui des contrôles à 12 mois (t-test : $p=0,0130$) (figure 10C).

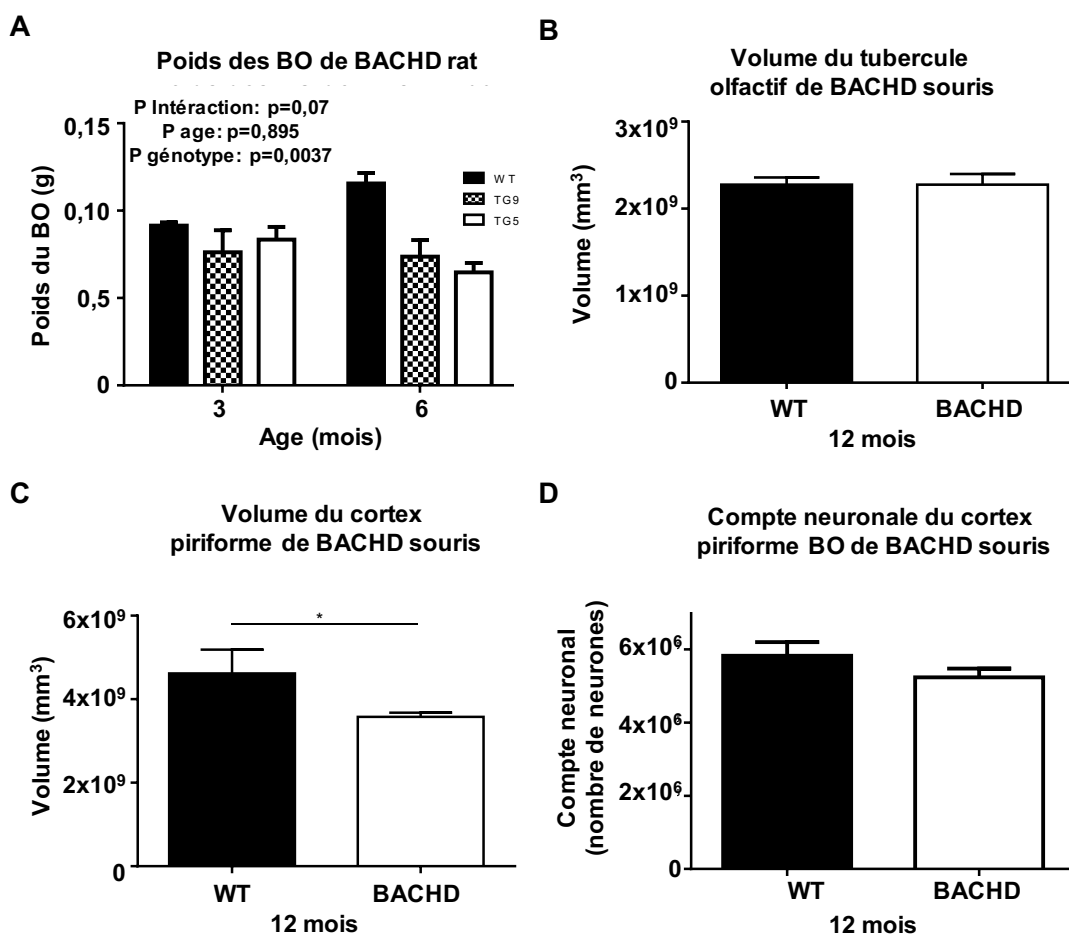


Figure 10. Altération du système olfactif dans le modèle de la MH, BACHD de rat

A) Dans les TG5 et TG9, le poids des BO tends à être inférieur que celui des WT à 6 mois. **B)** Tel qu'observé dans les YAC128, le volume du OT ne démontre guère de différence significative entre les souris WT vs BACHD ($n=14$ WT ; $n=12$ BACHD). **C)** mais une diminution du volume du PC est observé à 12 mois ($n=4$ WT ; $n=11$ BACHD). **D)** Par contre, aucune différence significative n'a été observé au niveau du compte neuronal du PC ($n=4$ WT ; $n=10$ BACHD). Barre d'erreur : SEM, WT = type sauvage, contrôle, sexe : mâles.

Augmentation de l'expression de certaines caspases initiateurs au stade présymptomatique dans le modèle de rat BACHD

L'expression de la httm pleine longueur est globalement plus abondante dans les TG5 (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Cependant dans les bulbes olfactifs (BO), la caractérisation du modèle rat BACHD effectué lors de cette étude spécifie que le niveau d'expression dans le BO n'a pas été directement comparé entre eux. Peu de résultats ont été faits directement dans les

deux lignées. Pour cette raison, durant mon projet de maîtrise, je me suis attardée à faire cette comparaison entre les deux lignées, TG9 et TG5, dans le BO afin de pouvoir comparer les deux lignées.

Une augmentation du niveau d'expression de caspase-3 en ARNm a été observée à 6 mois entre le contrôle et la lignée TG9 du modèle rat BACHD (ANOVA $p=0,03$, post hoc : WT vs TG9 $p<0,05$) (figure 11B). Le niveau d'expression protéique des différentes formes de la caspase-3 tendent à être augmentées dans les TG9 à 3 mois (p30: ANOVA $p = 0,07$; p19: ANOVA $p = 0,09$; p19: ANOVA $p = 0,14$) (figure 11C).

Une augmentation du niveau d'expression de caspase-8 en ARNm a été observée à 6 mois entre le contrôle et la lignée TG9 du modèle rat BACHD (ANOVA $p=0,02$, post hoc: WT vs TG9 $p<0,05$) (figure 11H). Tel qu'observé avec caspase-3, une augmentation du niveau d'expression de la proforme et de la forme clivée p18 de caspase-8 dans les TG9 à 3 mois a été détecté. Il est aussi intéressant de souligner que les TG5 expriment significativement moins de caspase-8 clivé dans les BO de 3 mois comparativement au TG9 (Proforme: ANOVA $p = 0,013$, post hoc: WT vs TG9, $p < 0,05$; p43/41: ANOVA $p = 0,08$, T test: WT vs TG9 $p = 0,052$; p18: ANOVA $p = 0,003$, post hoc: WT vs TG9, $p < 0,01$; TG5 vs TG9, $p < 0,05$) (figure 11I).

À l'âge de 3 mois, le niveau d'expression de l'ARNm de caspase-6 présente une tendance pour une augmentation chez la lignée du modèle rat BACHD, TG9 comparé aux contrôles (ANOVA $p=0,059$, post hoc : WT vs TG9 $p<0,05$) (figure 11D). Cependant, au niveau protéique, la forme active p20p10 de caspase-6 tend à diminuer dans les TG5 et les TG9 à 3 mois (Proforme: ANOVA $p = 0,09$, t test : WT vs TG5 $p < 0,05$; p20p10: ANOVA $p = 0,003$, post hoc: WT vs TG5, $p < 0,05$, WT vs TG9, $p < 0,05$) (figure 11F).

Le niveau d'expression en ARNm de caspase-9 dans le modèle rat BACHD tends à diminuer chez les TG9 de 3 mois comparé aux WT et diminue chez les TG5 de 6 mois comparé aux WT (3 mois : ANOVA $p=0,08$, t test : WT vs TG9, $p<0,05$; 6 mois : ANOVA $p=0,04$, t test: WT vs TG5, $p<0,05$) (figure 11J, K) (Tableau supplémentaire 1).

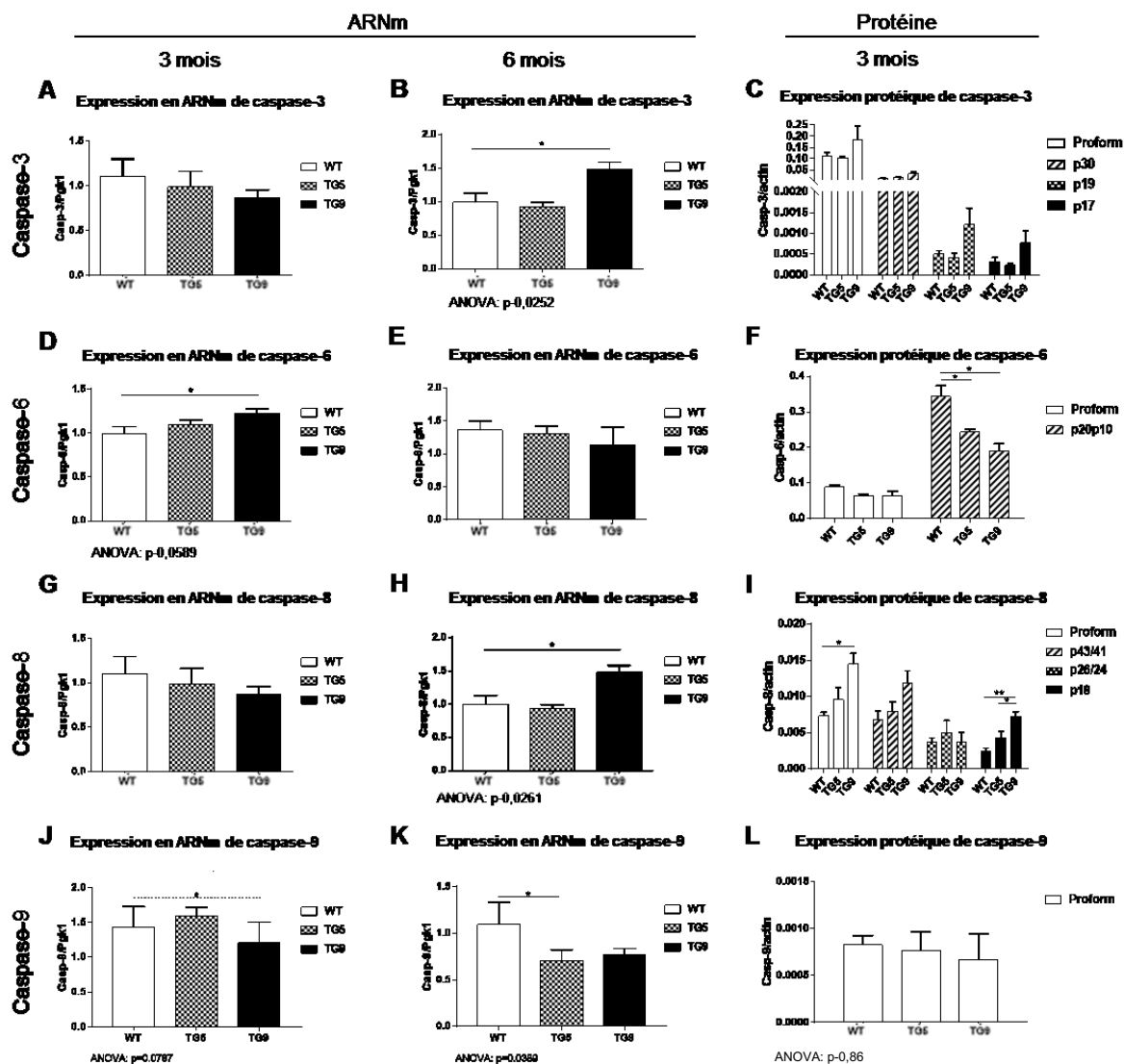


Figure 11. Variation de l'expression des caspases dans le bulbe olfactif de rat BACHD

A, B) Une augmentation du niveau d'expression en ARNm de caspase-3 est observé à 6 mois, (Barre d'erreur : SEM) et **C)** une tendance à une augmentation de fragments issus de l'expression protéique de caspase-3 est observé à 3 mois chez les rats de la lignée TG9. **D, E)** Une augmentation de l'expression de l'ARNm de caspase-6 a été observé à 3 mois (Barre d'erreur : SEM) et **F)** une diminution ou une tendance à une diminution de l'expression de la proforme et de p20p10 de caspase-6 est observé à seulement 3 mois chez TG5 et TG9 par rapport aux rats WT. **G, H)** Une augmentation de l'expression en ARNm de caspase-8 a été observé à 6 mois (Barre d'erreur: SEM) et, au niveau protéique, **I)** une augmentation ou une tendance pour un niveau d'expression supérieur de caspase-8 (proforme, p43/41 et p18) sont détectés chez les rats TG9 comparés aux rats WT à 3 mois. **J, K)** Une diminution et une tendance vers une diminution de l'expression en ARNm de caspase-9 a été observé à 3 et 6 mois respectivement. (ARNm, 3 mois : WT n=5, TG5 n=6 et TG9 n=6 ; 6 mois : WT n=4, TG5 n=3 et TG9 n=3 ; Protéine, 3 mois : WT n=4, TG5 n=4 et TG9 n=4). Pour les expressions

en ARNm les post hoc de type Dunnet sont présentés sur le graphique avec les lignes complètes et le t test est présenté sur le graphique avec les lignes pointillées. Pour les expressions protéiques les post hoc de types Tukey sont présentés sur le graphique avec les lignes complètes.

DISCUSSION

Depuis les dernières années, il y a de plus en plus d'étude démontrant le dérèglement du système olfactif dans les maladies neurodégénératives et le bulbe olfactif (BO) suscite un intérêt grandissant dans l'étude de ces maladies pour plusieurs raisons. Par exemple, plusieurs aires cérébrales, incluant le BO, joue un rôle essentiel dans le mécanisme de la neurogenèse à l'âge adulte (Lledo & Gheusi, 2003, Curtis *et al.*, 2007, Whitman & Greer, 2009, Ming & Song, 2011); les neuroblastes migrent de la zone subventriculaire (SVZ) vers le BO via le flux rostral migratoire et se différencie en interneurones (Ming & Song, 2011, Whitman & Greer, 2009). De plus, la première synapse neuronale du récepteur olfactif des cellules mitrales est localisée dans le BO (Lledo & Gheusi, 2003). De là, l'information est modulée, intégrée et transmise à des aires cérébrales supérieures, tel le cortex olfactif primaire. Il a été observé lors du diagnostic de patient de la maladie de Huntington (MH), une association entre la diminution des capacités olfactives et la présence de la protéine huntingtine mutante (h^{ttm}) (Bacon Moore *et al.*, 1999, Bylsma *et al.*, 1997, Delmaire *et al.*, 2013, Larsson *et al.*, 2006, Lazic *et al.*, 2007, Moberg & Doty, 1997, Nordin *et al.*, 1995). Malgré nos connaissances du système olfactif, peu d'information est disponible sur les mécanismes impliqués dans le dérèglement de l'olfaction aux différents stades d'évolution de la MH.

Nous avons tout d'abord investigué l'impact de la mhtt sur le développement des BO et les capacités olfactives de rongeurs modèles de la MH. Nous avons ensuite investigué l'expression de marqueurs de neurogénèse, de mort cellulaire (caspases) et d'inflammation (Iba-1 et GFAP) chez les souris YAC128 et rats BACHD afin de mieux comprendre les mécanismes menant aux dysfonctions olfactifs observés dans la MH.

La répercussion des maladies neurodégénératives sur les mesures du BO

La maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la MH sont des maladies neurodégénératives où un dérèglement du système olfactif est observé et s'accompagne d'anomalies structurales de l'épithélium olfactif (OE), des bulbes olfactifs (BO) et du cortex olfactif (Goldberg *et al.*, 1996, Sistonen *et al.*, 2012). Chez l'humain, une méthode utilisée pour étudier le BO est la mesure du volume du BO (Yousem *et al.*, 1997, Rombaux *et al.*, 2009). Le volume des BO change dans le temps en fonction de l'âge (Buschhuter *et al.*, 2008, Hummel *et al.*, 2011). Il y a augmentation du volume du BO chez les enfants et les adolescents (Hummel *et al.*, 2011) et diminution du volume du BO au cours du vieillissement (Buschhuter *et al.*, 2008). Certaines études mettent en évidence une relation étroite entre le volume du BO et les fonctions olfactives humaines (Buschhuter *et al.*, 2008, Haehner *et al.*, 2008). En plus, le volume du BO est positivement corrélé avec les performances olfactives et le volume du BO est affecté dans certaines maladies associées à un dysfonctionnement olfactif. Parmi ces maladies, on retrouve certaines maladies neurodégénératives telles : la maladie de Parkinson (Brodoehl *et al.*, 2012), la maladie de l'Alzheimer (Thomann *et al.*, 2009), ainsi que d'autres maladies telles : la rhinosinusite chronique (Gudziol *et al.*, 2009), plusieurs traumatismes (Jiang *et al.*, 2009), la schizophrénie (Turetsky *et al.*, 2000) et autres (Goektas *et al.*, 2011, Podlesek *et al.*, 2012). Dans tous les exemples mentionnés, il y a une diminution du volume du BO lorsque comparé à des individus en santé. Des publications expliquent ce changement de volume par une insuffisance d'afférences pour transférer l'information des récepteurs olfactifs vers le BO (Gudziol *et al.*, 2009).

Dérégulation neuroanatomique du bulbe olfactif dans la MH

Le développement du BO est influencé par htt

Dans le cadre de ce projet, nous avons observé une augmentation du poids des BO entre 3 mois et 12 mois dans les YAC128 et dans les WT et aucune différence significative n'est observée entre les souris YAC128 et les WT (figure 4A). Des observations similaires ont été faites avec le poids, chez le modèle BACHD rat (figure 10A). Nos résultats semblent à première vue aller à l'encontre de la présente littérature suggérant une diminution de volume des BO des souris YAC128. En effet, le volume des BO des souris YAC128 n'augmente pas entre 3 mois et 12 mois, mais le volume du BO présente une diminution significative du volume à 3

mois, à 8 mois et une tendance à la diminution à 12 mois chez les YAC128 lorsqu'il est comparé au volume des WT (Carroll *et al.*, 2011). Il est toutefois important de prendre en compte que les mesures de volume sont normalement corrigées sur la mesure totale du cerveau contrairement aux mesures du poids. Le fait que le poids des bulbes olfactifs augmente avec le vieillissement alors que le volume des BO reste stable pourrait être dû à l'influence de ce facteur de correction. Dans l'étude de Carroll *et al.*, 2011 le volume total du cerveau présente une diminution du volume total dans les YAC128 à 3 mois lorsque comparé au contrôle et que le volume total du cerveau de 12 mois tend à être plus petit lorsque comparé au 3 mois (Carroll *et al.*, 2011). Cette même tendance pour une diminution à 12 mois du volume total du cerveau, incluant les BO, a été observée dans le modèle de souris BACHD (Gray *et al.*, 2008a). Cette diminution du volume totale du cerveau à 12 mois dans des modèles murins peut être associée aux anomalies structurales de l'épithélium olfactif (OE), du bulbes olfactifs (BO) et du cortex olfactif (Goldberg *et al.*, 1996, Sistonen *et al.*, 2012) ou bien à la perte de volume spécifique du striatum observé dans les YAC128 et chez les humains affectés par la MH (Hobbs *et al.*, 2009, Hobbs *et al.*, 2010, Slow *et al.*, 2003, Graham *et al.*, 2006, Carroll *et al.*, 2011). Cependant, la densité neuronale tend à être constante, car le volume total diminue proportionnellement à la diminution de la dégénérescence neuronale. Dans l'étude de Slow *et al.*, 2003 il a été démontré qu'il n'y avait pas de différence significative de la densité à 9 mois et à 12 mois entre les souris WT et YAC128, pourtant une diminution significative de 18% du compte neuronal striatale est observée à 12 mois. Cette disparité entre nos résultats (absence de variation du BO entre les YAC128 et les WT) et le résultat de Carroll et son équipe nous suggère que la neuroinflammation l'influence la densité neuronale, et/ou une irrégularité de la neurogenèse à l'âge adulte dans les YAC128 de 12 mois. Il aurait été intéressant d'effectuer le décompte neuronal dans le BO et/ou l'analyse du volume des BO chez ces souris afin de mieux comprendre la relation entre le poids, le volume ainsi que la densité neuronale dans les BO.

Dans cette étude, deux modèles de la MH ont été utilisés, les YAC128 et les BACHD. Tel que mentionné plus tôt, les YAC128 ont été largement investigués dans la littérature. Cependant, ce n'est pas le cas des rats BACHD. En effet, BACHD rat, aucune étude antérieure n'a répertorié le poids ou le volume des BO des deux lignées de BACHD rat. Il est connu que

l'expression de la *htrm* pleine longueur est globalement plus abondante dans les TG5 lorsque comparés aux TG9 (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Cependant dans les BO, la caractérisation des deux lignées du modèle rat BACHD, le niveau d'expression dans le BO n'a pas été directement comparé entre eux. En fait, peu de résultats comparant les deux lignées sont disponibles dans la littérature. Comme le lieu d'insertion du transgène peut varier d'une lignée à l'autre et de ce fait, affecter des voies métabolique ou de signalisation intracellulaire différente, il est important de comparer les lignées entre elles afin de mieux cerner l'effet global du transgène .

Dans mon étude, le poids des BO à 3 mois et à 6 mois ont été compilés pour les deux lignées de BACHD rat. Comparativement aux YAC128, le poids des BO des TG5 et des TG9 tend à diminuer à 6 mois lorsque comparé aux contrôles (figure 10A) et le poids des rats contrôles reste stable entre 3 mois et 6 mois (figure 10A). Ces résultats observés chez les YAC128 et les BACHD rats suggèrent que la protéine *htrm* influence le développement du BO. Les observations faites interspèces sont différentes. La différence observée entre les deux différents modèles animaux de la MH peut être associée à : (1) l'espèce animal, (2) une différence d'âge analysé car le comparatif entre les YAC128 et les WT est entre 3 mois et 12 mois tandis que les BACHD est entre 3 mois et 6 mois, (3) la maturité sexuelle et (4) l'équivalence des âges entre espèces. Une souris de 2 mois équivaut approximativement à un humain de 20 ans, tandis qu'un rat de 2 mois équivaut à un humain de 12 ans. Il est connu que la maturité sexuelle et le développement neuronale est dépendante de l'âge. La diminution du poids du BO observé dans les BACHD pourrait être aussi liée à une insuffisance d'afférences permettant le transfert de l'information des récepteurs olfactifs vers le BO, tel qu'observé chez l'humain (Gudziol *et al.*, 2009). Comme des gains et des pertes de fonction sont observés avec l'élongation des répétitions glutamines de la *htrm*, les fonctions normales de *htt* tels que: le transport intracellulaire vésiculaire, la régulation de la transcription, l'inhibition de la mort programmée et le développement embryonnaire, sont susceptible d'être altérés et d'influencer par le même fait le développement du BO.

Atrophie du cortex piriforme dans les modèles de souris de la MH

Nous avons démontré jusqu'ici que le développement du BO est altéré par la mutation à l'origine de la MH. Comme les fonctions du BO sont étroitement reliées à différentes régions

du cortex olfactif, nous avons voulu investiguer l'impact de la *httn* sur le cortex piriforme et le tubercule olfactif. Nous avons choisi d'investiguer le cortex piriforme (PC) et le tubercule olfactif (OT) car le PC est l'aire la plus large du cortex olfactif et est associée à une large distribution spatiale avec chevauchement d'ensemble de neurones pyramidaux actifs dans la représentativité des odeurs (Mori, 2014). De son côté, le PC a de nombreuses projections vers le tubercule olfactif (OT). Le OT est contenu dans le striatum ventral. Le OT est connu pour jouer un rôle dans l'interface entre le signal sensoriel et la motivation comportementale (Ikemoto, 2007).

Dans mon étude, nous avons remarqué que le PC des YAC128 à 12 mois tend à diminuer de 7% (figure 4C) et que le compte neuronal dans le PC diminue de 19% (figure 4D). Il est aussi intéressant de souligner qu'une diminution de volume du PC a été observée à 12 mois dans le modèle de souris BACHD (figure 10C). Il y aurait donc une atrophie du PC dans les modèles murins de la MH à 12 mois, soit au stade postsymptomatique. Ces résultats sont similaires à ceux détaillés dans la présente littérature puisque des études sur le modèle de souris de la MH, R6/2, ont démontré un dérèglement sélectif dans la discrimination des odeurs associée à une diminution de la plasticité du PC (Lazic *et al.*, 2007) et une diminution du volume du PC a été observée à partir de 4 semaines de vie dans différents modèles murins de la MH (Zhang *et al.*, 2010, Aggarwal *et al.*, 2012, Lazic *et al.*, 2007). La diminution du compte neuronal et la tendance pour la diminution de volume dans le cortex piriforme suggère un nombre plus limité de projection reçu du bulbe olfactif (BO), ce qui pourrait engendrer par la même occasion une perturbation de la discrimination des odeurs et de la plasticité neuronale au PC. De façon intéressante, une désorganisation de la transmission des signaux olfactifs au PC postérieur a été détectée lors d'une exposition à une odeur dans la maladie de l'Alzheimer, mais les mesures en amont du PC tel ceux du bulbe olfactif (BO) n'ont pas été compilées (Li *et al.*, 2010). Ces données suggèrent que le PC aurait un rôle à jouer dans la diminution des capacités olfactives observée chez les patients de la MH ou que cet effet serait attribuable à l'un des médiateurs des signaux olfactifs en amont du PC, tel que le BO.

Il serait pertinent de faire différentes mesures à des âges plus hâtifs dans les YAC128 et les BACHD pour mieux cerner le moment du début de l'atrophie du PC et ainsi savoir si l'atrophie observée subvient avant les symptômes mimant la MH. Il sera aussi possible d'investiguer le lien de causalité entre ce paramètre et la diminution des capacités olfactives dans la MH, tel que suggéré dans la maladie de l'Alzheimer (Li *et al.*, 2010).

Dans les structures corticales primaires de l'olfaction ayant été examinées précédemment dans le MH, on retrouve aussi le OT. Précédemment, une étude a démontré que les volumes de différentes structures cérébrales des YAC128 ne présente aucune variation significative du OT à 3 mois et à 12 mois (Carroll *et al.*, 2011), la même chose a été observée dans notre étude à 12 mois dans les YAC128 (figure 4B) et dans le modèle de souris BACHD (figure 10B). Il est intéressant de souligner que, dans l'étude de Carroll *et al.*, 2011, une tendance pour une diminution du volume du OT a été observée à 8 mois dans les YAC128 comparés au WT (Carroll *et al.*, 2011). Ce qui peut suggérer que le stimuli olfactif, aussi nommée signal sensoriel, influence la motivation comportementale du a une adaptabilité du au OT (Ikemoto, 2007). Ainsi, lorsqu'il y a apparition de la dysfonction motrice observée entre 4 et 6 semaines dans ce même modèle animal de la MH, YAC128 (Slow *et al.*, 2003) le OT situé à proximité des aires cérébrale de la motricité tel le striatum jouerait un rôle clé dans la reconnaissance des odeurs type relié à un danger. Par ce fait, malgré l'atrophie observée au striatum la capacité d'adaptation du OT limiterait son atrophie, car ses fonctions sont associées à la détection de signaux olfactifs d'une situation urgence qui nécessite un mouvement.

Nous avons constaté une diminution ou une tendance pour la diminution du volume et du compte neuronal du PC. Il n'est cependant pas clair si la diminution de ces paramètres se traduit par une diminution de la densité neuronale et quelle est l'influence de la neuroinflammation sur l'intégrité neuronale du BO. Dans la MH, il y a dégénérescence neuronale, donc une perte neuronale. La diminution du nombre de neurones est accompagnée de la diminution de volume des régions. Dû à leurs diminutions proportionnelles, Slow *et al.*, 2003 ont pu observer un maintien de la densité neuronale. Il est possible que l'activation de microglies et de cellules astrocytaires diminue la progression de l'atrophie des régions

cérébrales. Ainsi, l'activation des microglies et des astrocytes aide au maintien du volume des structures cérébrales facilitant une stabilité de la densité neuronale. L'influence de la neuroinflammation dans le volume du BO pourrait induire une diminution d'afférences vers le cortex piriforme réduisant le nombre de neurones, mais n'affecterait pas significativement le volume du cortex piriforme et du tubercule olfactif. Cependant, le nombre d'afférences peut avoir un impact énorme sur la discrimination des odeurs et le comportement associé même s'il n'est pas accompagné d'une atrophie cérébrale, d'où d'intérêt de s'y intéresser.

Investigation des capacités olfactifs des YAC128 présymptomatique

Jusqu'à présent nous avons démontré que le développement du BO est altéré par la mutation à l'origine de la MH et que les fonctions du BO sont étroitement reliées à différentes régions du cortex olfactif, les dérégulations physiologiques de certaines régions cérébrales du système olfactif sont observées chez les deux modèles de la MH, dont les souris YAC128. Comme une diminution des capacités olfactives est observée en clinique au stade prodrome chez les « futurs » patients de la MH, nous avons voulu déterminer si ces dérégulations physiologiques se traduit par un déficit olfactif dans un modèle de souris de la MH, soit les YAC128. Cet objectif est important, car chez l'humain une diminution des capacités olfactives est observée en clinique au stade prodrome chez les « futurs » patients de la MH (Tabrizi *et al.*, 2009, Delmaire *et al.*, 2013). Pour cette raison, notre laboratoire a décidé d'investiguer si le modèle murin YAC128 présentait un dérèglement olfactif à 1 mois d'âge, bien avant l'âge répertorié dans la littérature de l'apparition de dysfonction motrice (entre 4 et 6 mois), représentant le début de l'apparition de symptômes moteurs chez l'humain (Slow *et al.*, 2003, Van Raamsdonk, Pearson, Rogers, *et al.*, 2005, Van Raamsdonk, Murphy, *et al.*, 2005).

Nous avons sélectionné les souris YAC128, car les modèles murins exprimant uniquement le fragment tronqué de la httm humaine démontrent une accélération du développement de la pathologie de la MH comparativement aux modèles exprimant la httm humaine (YAC128 et BACHD). Par exemple, la R6/2, exprimant seulement un fragment tronqué de la httm (tableau 1), développent des liens cognitifs jusqu'à 8 semaines d'âge pour ensuite manifester un déclin cognitif et moteur à 14 semaines et décède aux alentours de la 20^e semaine d'âge.

Les souris en générale atteignent leur maturité sexuelle à 8 semaines. Le modèle murin YAC128 de souche FVB exprime tant qu'à lui, la httm pleine longueur (tableau 1) et présente un déficit d'apprentissage à 8 semaines d'âge, un déficit moteur à partir de 16 semaines d'âge et une hypoactivité à partir de 32 semaines d'âge (Slow *et al.*, 2003, Van Raamsdonk, Pearson, Slow, *et al.*, 2005). Ainsi, les modèles murins exprimant uniquement le fragment tronqué de la httm humaine démontrent une accélération du développement de la pathologie de la MH et vivent moins longtemps comparativement aux modèles (YAC128 et BACHD) exprimant la httm humaine pleine longueur qui imite plus fidèlement l'apparition des symptômes de la MH observé chez l'humain en clinique.

Nos résultats chez le modèle YAC128 à 1 mois présente une tendance pour une diminution de leur capacité dans la détection des odeurs (figure 5F) et ce avant l'apparition du déficit d'apprentissage et moteurs (Slow *et al.*, 2003, Van Raamsdonk, Pearson, Slow, *et al.*, 2005). Nos résultats s'alignent avec ce qui été observé sur la lignée R6/2 qui présenterait une diminution de leurs capacités de détection des odeurs dès 8 semaines d'âge et ce déficit s'amplifie à 12 mois d'âge dans ce modèle (Mo *et al.*, 2015). De plus, il a déjà été mentionné dans la littérature qu'un dérèglement olfactif et des régions cérébrales olfactives étaient observés dans les modèles knock-in de la MH (Menalled *et al.*, 2003b). Ces observations suggèrent qu'il pourrait y avoir un début de déclin olfactif implicite à la discrimination olfactive chez les souris YAC128 de 1 mois d'âge avant l'apparition du dysfonctionnement de la motricité, car le temps d'investigation des odeurs tend à être augmenté dans les YAC128 de 8,8% à leur deuxième exposition et de 5,4% à leur troisième expositions. Ce dérèglement suggère une altération de la neurogenèse associé à la httm, car le nombre de neurones au niveau du bulbe olfactif peut avoir une influence directe sur le nombre d'afférence qui va du BO vers le cortex olfactif. Ainsi, la diminution de transmission du signal pourrait influencer la discrimination olfactive dû à une diminution de la reconnaissance des signaux olfactifs d'origine sociale et non-sociale.

Neurogenèse au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128

Nous avons démontré jusqu'ici que le développement du BO et la capacité olfactive sont altéré par la mutation à l'origine de la MH. Comme les fonctions du BO sont étroitement reliées à différentes régions du cortex olfactif, nous avons voulu investiguer l'impact de la

http sur la neurogenèse présente dans le BO. Pour cette raison, nous avons voulu déterminer si la neurogenèse est altérée dans les YAC128 au stade post symptomatique.

Différents acteurs sont impliqués dans le processus neurogénique à l'âge adulte. Les paramètres sélectionnés pour mon projet ont été les niveaux de l'expression en ARNm de NeuroD et ApoE, ainsi que l'expression protéique et la localisation dans le BO de NeuN, TH et Dcx. Mon étude est pionnière pour l'investigation de ces marqueurs dans le BO de modèle de la MH. NeuroD est identifié, entre autre, comme un facteur qui induit la différenciation terminale neuronales durant la neurogenèse à l'âge adulte, plus précisément dans les interneurons dites des GPC du BO (Boutin *et al.*, 2010). Il y a une tendance pour la diminution du niveau d'expression d'ARNm de NeuroD à 12 mois ce qui suggère une diminution de la différenciation terminale des neurones durant la neurogenèse à l'âge adulte des GPC du BO sur des souris de 12 mois dû à des niveaux inférieurs de ce facteur lorsque comparée à de jeune souris de 3 mois (figure 6A, B). De façon similaire, une diminution de l'expression de NeuroD a été précédemment observé à l'âge adulte dans le BO (Nibu *et al.*, 2001). Le niveau d'expression en ARNm de NeuroD dans le BO entier dans notre étude semble être naturellement moins élevé dans les YAC128 à 3 mois et à 12 mois lorsque comparé à la souris contrôle. Afin de mieux interpréter ces résultats, nous avons aussi voulu analyser l'expression d'un marqueur de neurones mature.

L'immunomarquage du nucléole de neurones matures (NeuN) a été largement utilisée comme marqueur pour la plupart des sous-ensembles de neurones, mais les cellules mitrales et certains neurones de la couche glomérulaire dans le BO ne sont pas immunoréactifs à NeuN chez les rongeurs (Mullen *et al.*, 1992). Il est aussi intéressant de souligner qu'il existe un petit sous-ensemble de neurones également dans le BO humain qui sont NeuN négatif (Bergmann *et al.*, 2012). Mes résultats ont révélé une diminution de l'intensité réciproque de l'immunomarquage de NeuN dans les YAC128 de 12 mois (Figure 6E). Cette différence suggère qu'il y aurait (1) une diminution dans la présence de certaines cellules neuronales matures dans le BO, (2) une augmentation de neuroblaste qui n'atteigne pas la maturité neuronal ou (3) une augmentation de cellules mitrales ou de cellules glomérulaires dans le BO, toutes deux non immunoréactive avec NeuN chez les rongeurs (Mullen *et al.*, 1992).

Nos résultats suggèrent une augmentation des cellules glomérulaires dans les BO. Ces niveaux inférieurs d'expression de NeuroD et de NeuN suggèrent une diminution de neurones mature dans le BO des YAC128. Cependant, il n'est pas clair quelle étape de la neurogenèse est altérée chez ce modèle murin. Afin de répondre à cette question, nous avons alors analysé un marqueur de neurone immature.

La neurogenèse est étroitement liée à la génération de nouveaux neurones pouvant devenir matures. Les neuroblastes immunomarqués par Double-cortine (Dcx) est communément utilisé. L'immunomarquage Dcx est un marqueur de la neurogenèse à l'âge adulte c'est-à-dire qu'il marque la protéine de l'expression transitoire de neuroblastes dans le cerveau adulte (Brown *et al.*, 2003). En immunohistochimie, nous avons observé une augmentation de la présence de neuroblastes dans la couche des GC du BO chez les YAC128 de 12 mois (figure 6G, F et H). De plus, une augmentation de la zone occupée par les neuroblastes en expression transitoire a été remarquée (figure 6G). Cependant, lorsque la quantification par dénombrement de cellule est faite une équivalence du nombre de neuroblaste dans le BO entier a été observé (figure 6H). Les neuroblastes peuvent se différencier en cellules granulaires (GC). La génération des GC et des cellules périglomérulaires (GPC) atteint un pic de génération durant la phase tardive de l'embryogenèse et durant la phase hâtive de la période néonatale. La génération de ces interneurons continue substantiellement à l'âge adulte. Chez le rongeur des dizaines de milliers de neurones entrent dans les bulbes olfactifs (BO) chaque jour (Alvarez-Buylla *et al.*, 2001, Winner *et al.*, 2002, Lledo *et al.*, 2006) et ce nombre correspond grossièrement à 1% du nombre total des interneurons du BO. Bien que le nombre total des interneurons incluant les GC dans le BO tendent à diminuer avec le vieillissement, il est intéressant de souligner que la neurogenèse chez le rongeur est même détectée chez des souris de 2 ans (Enwere *et al.*, 2004). Les GC reçoivent les contacts glutaminergiques des cellules mitrales et de tufteds qui proviennent de la neurogenèse à l'âge adulte. C'est par les synapses dendrodendritiques dans la couche plexiforme externe et des cellules pyramidales du cortex olfactif à l'aide de leurs connexions synaptiques axodendritiques de la GCL que les synapses environnant le BO incorporent les GC issus de la neurogenèse à l'âge adulte après environ 1 mois suivant leur génération (Petreanu & Alvarez-Buylla, 2002, Carleton *et al.*, 2003, Whitman & Greer, 2007, Kelsch *et al.*, 2008,

Kelsch *et al.*, 2010, Katagiri *et al.*, 2011). Cette observation suggère qu'il y aurait possiblement augmentation de la neurogenèse dans les souris YAC128 de 12 mois lorsque comparé au WT, car le nombre de Dcx est être similaire dans les YAC128 et les contrôles, mais une diminution de l'intensité réciproque du marquage de NeuN est observée dans les YAC128 lorsque comparé au WT. Nos observations vont dans le même sens que ce qui est observé au niveau du striatum adjacent du SVZ de patient de la MH (Ernst *et al.*, 2014). Les résultats ayant été observés dans la littérature suggèrent qu'il y aurait une augmentation de la neurogenèse SVZ / BO dans des modèles murins de la MH (White *et al.*, 1997a, Kohl *et al.*, 2010). Cependant, une diminution de la neurogenèse a été observée dans d'autres études faites avec des modèles murins de la MH sur la neurogenèse hippocampale au niveau du gyrus dentée (Gil *et al.*, 2005, Lazic *et al.*, 2007, Kohl *et al.*, 2007, Simpson *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent une l'altération du développement et de l'incorporation de nouveaux neurones. Qui peut suggérer simultanément un mécanisme de compensation, compensation du dérèglement du système olfactif, ainsi l'altération de la neurogenèse à l'âge adulte est davantage au niveau du processus de la différenciation associé à la maturation neuronale, plutôt qu'à la génération de nouveaux neuroblastes.

Lors de la neurogenèse SVZ / BO à l'âge adulte deux types cellulaires sont générés les GC et les GPC dans le BO. Les GPC se retrouvent dans la couche glomérulaire du BO. Les GPC se sous-divisent en 3 populations dont l'expression moléculaire de la Thyrosine hydroxylase (TH) est la première à être exprimé (Kosaka *et al.*, 1995, Parrish-Aungst *et al.*, 2007). Il est connu que certaines GC expriment la calmoduline (Gribaudo *et al.*, 2009), mais il n'en reste pas moins que la majorité des GC n'exprime pas de marqueurs protéiques connus pour les sous-types d'interneurones (Mori, 2014). Aucune différence significative a été observé sur l'intensité réciproque des TH observée dans le GC du BO, mais une augmentation de l'intensité réciproque des TH a été observé dans la GL et la EPL des YAC128 de 12 mois lorsque comparé au WT (figure 6I). La GL et la EPL sont les couches du BO qui contiennent les afférences et des ramifications des cellules mitrales et de tufted (figure 2) qui suggère une augmentation du nombre de sous-type d'interneurones TH dans les YAC128 de 12 mois lorsque comparé au WT. L'augmentation d'interneurone est périphérie du BO dans les YAC128 suggère une restriction des signaux olfactif avant leur transmission vers le cortex

piriforme, car les interneurones sont connus diminuer l'intensité d'un signal transmis par les cellules mitrales et de tufted.. Cependant, il est intéressant de souligner que l'ablation au laser des cellules exprimant TH de GPC sera compensé par la génération et l'intégration de nouveau GPC exprimant TH et ce, dans le même positionnement qu'avant l'ablation (Sawada *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent que le mécanisme de compensation et de renouvellement d'interneurones est sous-jacent à la maintenance du circuit neuronal durant la neurogenèse à l'âge adulte (Mori, 2014, Cossette *et al.*, 2004). Il est toutefois à noter que ces résultats ont été obtenu à 12 mois d'âge. Afin de mieux cerner les mécanismes de maintenance du circuit neuronale et de neurogénèse chez les YAC128, il serait intéressant d'analyser ces marqueurs de neurogénèse chez les YAC128 au stade présymptomatique.

Nous avons aussi analysé l'expression de l'ApoE à 3 mois et à 12 mois dans le modèle murin YAC128 (figure C, D). ApoE est une protéine qui interférerait dans les mécanismes reliés à des désordres neurologiques modulant la neuroinflammation (Guo *et al.*, 2004, Colton *et al.*, 2004), le métabolisme lipidique (Pedro-Botet *et al.*, 1992, Miyata & Smith, 1996), la plasticité synaptique (Wang *et al.*, 2005) et la toxicité neuronale (Tolar *et al.*, 1999). Nous avons observé une tendance vers l'augmentation des niveaux d'expression d'ApoE à 12 mois dans les YAC128 (figure 6D). Il a été précédemment suggéré qu l'ApoE aurait possiblement un rôle dans la MH (Panegyres *et al.*, 2006, Kehoe *et al.*, 1999) et qu'il y aurait aussi un rôle clé dans le développement du BO, principalement au niveau des cellules glomérulaires et dans l'épithélium olfactif (OE) (Nwosu *et al.*, 2008). Les isoformes d'ApoE ont un effet sur la régulation, la maturation et la sécrétion du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) des astrocytes et pourrait en cause dans l'augmentation des risques d'être atteint de la maladie de l'Alzheimer chez les gens porteurs de l'ApoE4 (Sen *et al.*, 2017). En plus, la htt être cruciale pour le transport de BDNF à partir de son site de production vers la membrane cellulaire (Gauthier *et al.*, 2004). Dans la MH, la fonction dans le transport vésiculaire de la protéine httm est altérée, Il a été observée chez les patients atteints de la MH, une diminution de la concentration de BDNF au cerveau (Cattaneo *et al.*, 2001) et une dérégulation du transport vésiculaire menant à une altération de la libération du BDNF dans la synapse (Gauthier *et al.*, 2004) réduisant ainsi la capacité des neurones à libérer ce facteur crucial pour la survie neuronale. Cette tendance à l'augmentation de l'expression de l'ApoE

corrobore la possibilité qu'ApoE influence le développement du BO ou participerait à la neuroinflammation et à la toxicité neuronale dans la MH.

Nos connaissances sur la neurogenèse chez le cerveau adulte humain est en retards considérant les nombreuses études ayant caractérisé les procédés neurogéniques chez les rongeurs et les primates non humains. Les processus de neurogenèse chez le rongeur possèdent quelques différences comparées aux processus observés chez l'humain. La zone subventriculaire (SVZ) de l'humain et du rongeur est une niche neurogénique propice pour la neurogenèse à l'âge adulte. L'investigation lors d'autopsie sur l'humain pour les structures nécessaires au flux rostral migratoire (RMS), située dans le BO dans d'autres mammifères et primates, ont dévoilé des équivalences chez l'humain (Sanai *et al.*, 2004, Kornack & Rakic, 2001, Curtis *et al.*, 2007). Il y a maintenant des preuves solides que les nouveaux neurones sont générés dans le cerveau humain en nombre comparable à ceux observés chez les rongeurs, au moins dans l'hippocampe au niveau de la région du gyrus denté (Eriksson *et al.*, 1998, Knoth *et al.*, 2010, Spalding *et al.*, 2013). Chez l'humain et le rongeur, la SVZ contient des cellules qui prolifèrent *in vivo* et qui se comportent comme des cellules souches multipotentes *in vitro* (Bédard & Parent, 2004, Bernier *et al.*, 2000, Johansson *et al.*, 1999, Kirschenbaum *et al.*, 1994, Kukekov *et al.*, 1999, Nunes *et al.*, 2003, Palmer *et al.*, 2001, Sanai *et al.*, 2004). Dans la SVZ humaine, la situation reste quelque peu controversée, mais les preuves actuelles suggèrent que la neurogenèse dans le SVZ / BO cesse au début de la période postnatale même si les cellules souches progénitrices aux repos peuvent persister dans le SVZ (Sanai *et al.*, 2011, Curtis *et al.*, 2007). Chez l'humain et le rongeur, la SVZ contient des cellules qui prolifèrent *in vivo* et qui se comportent comme des cellules souches multipotentes *in vitro* (Bédard & Parent, 2004, Bernier *et al.*, 2000, Johansson *et al.*, 1999, Kirschenbaum *et al.*, 1994, Kukekov *et al.*, 1999, Nunes *et al.*, 2003, Palmer *et al.*, 2001, Sanai *et al.*, 2004). Les connaissances actuelles sur la neurogenèse à l'âge adulte peuvent être extrapolées à l'homme avec certaines considérations (Breunig *et al.*, 2007). Certaines études ont mis en évidence une faible présence de la neurogenèse à l'âge adulte chez l'humain dans le néocortex (Bhardwaj *et al.*, 2006) et le BO (Bergmann *et al.*, 2012) contrairement au rongeur. Cependant, la présence de la neurogenèse à l'âge adulte présenterait une plus forte présence au niveau du striatum adjacent du SVZ (Ernst *et al.*, 2014) pouvant suggérer une

modification dans l'arbre phylogénétique des mammifères au niveau de la neurogenèse (Kempermann, 2014, Kempermann, 2012). A l'appui de ce fait, il a été récemment constaté que les interneurons striataux humains sont générées tout au long de la vie dans le striatum humain et que le nombre de ce sous-type neuronal est affecté dans la MH (Ernst *et al.*, 2014). Ainsi, tant chez l'humain que dans les rongeurs il y a une neurogenèse à l'âge adulte. Le défi est de pouvoir transposer les différentes structures pour perfectionner la compréhension de la neurogenèse et de ces mécanismes.

Neuroinflammation au stade postsymptomatique dans le modèle murin YAC128

Nous avons démontré jusqu'ici que le développement du bulbe olfactif (BO), la capacité olfactive et la neurogenèse sont altérés par la mutation à l'origine de la maladie de Huntington (MH). L'inflammation dans le système nerveux central ou en périphérie est généralement initiée par un dérèglement de l'état de santé normal. (lésion pathologique, un traumatisme, une infection, le repliement de protéines anormales ou de l'agrégation ainsi que d'autres déclencheurs) (Möller, 2010). Certaines études soulignent que dans la MH, il y aurait une activation du système immunitaire et une réponse immunitaire altérée présente au stade prodrome de la MH (Björkqvist *et al.*, 2008). La dégénération du striatum et du cortex pourrait être une conséquence du déclenchement de l'inflammation. D'un autre côté, il est aussi possible que l'augmentation de l'inflammation dans la MH pourrait être la réponse à la mort neuronale qui serait induite par la protéine huntingtine mutante (htt^m) (Ellrichmann *et al.*, 2013). Nous avons ensuite analysé différents marqueurs neuroinflammatoires afin d'approfondir la compréhension de la neuroinflammation dans le bulbe olfactif (BO) de modèles murins de la MH et de son impact sur le déficit olfactif.

La neuroinflammation peut être induite par des facteurs solubles, par exemple des cytokines, des prostaglandines et l'oxyde nitrique (NO) menant à une dégénérescence neuronale. Une caractéristique cellulaire de la neuroinflammation est la présence de cellules microgliales, un marqueur typique pour l'activation immunitaire dans le système nerveux central (Möller, 2010). Iba-1 est un marqueur pour les cellules microgliales qui sont des médiateurs primaires de la neuroinflammation (Ransohoff & Perry, 2009, van Rossum & Hanisch, 2004) et qui semble jouer un rôle clé dans la pathogenèse de maladies neurodégénératives (Lobsiger & Cleveland, 2007). Dans mon étude, nous avons observé qualitativement une augmentation

généralisée de l'immunomarquage du marqueur de microglies, Iba-1, et du marqueur astrocytaire, GFAP, dans les BO de 12 mois de YAC128 (figure 7A, E). Les observations qualitatives de GFAP et de Iba-1 suggèrent une augmentation de la neuroinflammation dans le BO susceptible d'induire un dysfonctionnement olfactif. Une augmentation de cellules microgliales a aussi été observée dans des BO de patients affectés par la maladie de l'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Doorn *et al.*, 2014). En plus, dans le modèle murin R6/2 une augmentation des cellules microgliales a été observée entre 2 et 4 semaines au niveau striatal et entre 5 à 7 semaines au niveau cortical (Simmons *et al.*, 2007). Cependant, dans nos résultats, lors du dénombrement des microglies ou de la détermination de l'intensité réciproque de GFAP aucune différence significative n'est ressortie. Cependant, le dénombrement de cellules microgliales ne nous permet pas d'évaluer l'état d'activation de la microglie.

Dans des conditions physiologiques, les microglies sont dans un état de repos et contribuent aux réponses immunitaires innées (Streit, 2002). Nous avons donc évalué le nombre de projections dans les cellules Iba-1 positives par l'analyse de Sholl. À la suite de cette analyse, nous avons détecté un changement dans la morphologie des cellules immunomarquées pour Iba-1. En effet, nous avons observé une tendance pour une augmentation de 8% de plus de projection dans les YAC128, lorsque comparée au WT dans le BO (figure 7C). Comme la htt joue un rôle essentiel dans le transport du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) et que ce facteur influence le nombre de projections des cellules microgliales, il est possible qu'une altération dans la sécrétion de ce facteur soit impliquée dans cette augmentation de projections. Cependant, l'exposition au facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) augmente le nombre d'intersections neuritiques proximales du soma (Chen *et al.*, 2006) alors que dans nos résultats, la différence est observée loin du soma, suggérant que la différence est présente plus au niveau des projections secondaires et tertiaires des microglies des YAC128. Les projections sont donc probablement plus en mode surveillance que les WT du même âge.

Nos observations dans le modèle murin de la MH, YAC128 présente qualitativement une augmentation de microglies dans le BO de YAC128 (figure 7A), mais un dénombrement dans différentes couches cellulaires du BO ne présente pas de différence (figure 7B), mais présente une tendance pour un nombre d'embranchements plus élevés dans les microglies du BO des YAC128 de 12 mois (figure 7C). Il a été précédemment démontré que, dans les cerveaux porteurs de la *hTtm*, les microglies sont activées avant même l'apparition des symptômes cliniques (Tai *et al.*, 2007). Chez l'humain, une augmentation de l'activation microgliale au stade prodrome de la MH est observée (Politis *et al.*, 2015). Dans cette même étude, il est dit que les patients de la MH au stade prodrome présentaient des taux élevés du marqueur de la protéine translocatrice de l'activation microgliale dans les régions corticales, le ganglion de la base et le cerveau thalamique. Dans le système nerveux central de patient prodrome de la MH une augmentation de 30 à 80% a été observée pour l'activation microgliale dans les régions striatale, corticale et thalamique. La *hTtm* est exprimée dans la microglie (Bjorkqvist *et al.*, 2008) où elle régule à la hausse la voie dépendant de NF- κ B entraînant l'expression du gène proapoptotique (Khoshnan *et al.*, 2004). Selon nos observations l'activation microgliale dans le BO tendrait à être plus élevée dans les WT lorsque comparés au YAC128 de 12 mois contrairement à ce qui est observé dans les régions striatale, corticale et thalamique de patient de la MH (Politis *et al.*, 2015). En plus, une augmentation du niveau d'expression en ARNm de caspase-8 a été observée dans le BO de YAC128 de 12 mois (figure 8H). Les cellules immunitaires du système nerveux central expriment fortement la *hTtm* dans le système nerveux centrale (Trottier *et al.*, 1995, Ferrante *et al.*, 1997) et périphérique (Bjorkqvist *et al.*, 2008), où elle favorise la prolifération cellulaire autonome pro-inflammatoire et l'activation immunitaire (Bjorkqvist *et al.*, 2008, Crotti *et al.*, 2014). Ainsi, l'activation du système immunitaire et une réponse immunitaire altérée peuvent contribuer à la pathogenèse de la MH. L'implication de la neuroinflammation a été démontrée dans certaines maladies neurodégénératives telles : la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose amyotrophique latérale (Harry & Kraft, 2008, Hirsch & Hunot, 2009, Lobsiger & Cleveland, 2007, Rogers, 2008). Cependant, dans la MH, l'information disponible sur le processus de neuroinflammation est beaucoup plus limitée. Il est connu que la *hTtm* dans la microglie favorise l'expression de cytokines pro-inflammatoires accrues contribuant aux lésions tissulaires et à la pathogenèse de la maladie (Crotti *et al.*,

2014). Elle entraînerait aussi une augmentation cellulaire autonome des facteurs pro-inflammatoires et neurotoxiques, qui peuvent exercer des déficits neuropathologiques dans la MH (Crotti *et al.*, 2014). L'augmentation de l'activation de caspases proapoptotique induite par la httm dans les régions striatale, corticale et thalamique suggère une même augmentation dans le BO suggérant une diminution du seuil requis pour observer la déplétion chronique d'ATP cellulaire observée dans la mitochondrie appuyant l'hypothèse du mécanisme de l'excitotoxicité dans le BO de souris mimant la MH.

Les caspases auraient aussi un rôle clé dans la neuroinflammation. Le stimulus inflammatoire signale simultanément à l'inflammasome et aux récepteurs Toll-Like (TLR). L'activation des TLR conduit à l'activation de la caspase-8 puis à l'activation de la caspase-3. L'activation de ce dernier conduit à l'activation de la voie de NF- κ B, voie aussi régulée par httm. L'accumulation au noyau de NF- κ B mène à l'activation de l'expression des gènes de cytokines inflammatoires incluant le précurseur de pro-IL-1 β et de pro-IL-18 (Venero *et al.*, 2013). Afin de mieux comprendre la relation entre l'inflammation et les caspases dans la MH, nous avons investigué l'expression de diverses caspases dans deux modèles murins de la MH.

Niveaux d'expression des caspases en ARNm et en protéines dans la MH

La httm influencée par les caspases semble affecter divers processus cellulaires notamment l'inflammation. Afin de valider et comparer nos modèles de rongeurs entre eux, nous avons voulu caractériser l'expression des protéines htt et httm dans ces deux modèles de rongeurs de la MH, les YAC128 et les BACHD. Nous avons montré que la htt est exprimée dans le bulbe olfactif (BO) de YAC128 (figure supplémentaire 2). Concernant le modèle de rat BACHD, l'expression de la httm pleine longueur est globalement plus abondante dans les TG5. Peu de résultats comparent les lignées de BACHD entre eux. Il est intéressant de noter que même si les deux lignées ont été créées en parallèle avec le même transgène, l'expression de httm n'est pas similaire dans les deux lignées pouvant ainsi influencer différemment certains processus biologiques.

Les modèles expérimentaux de la MH ont aussi démontré des changements liés à l'apoptose incluant la fragmentation de l'ADN et l'amplification de l'expression des caspases (Henshall

et al., 2002, Ferrer *et al.*, 2000). Afin de mieux comprendre l'impact de la *htrm* sur les processus apoptotiques et le rôle des caspases dans le déclin du système olfactif observé dans la MH, nous avons analysé l'expression des caspases 3, 6, 8 et 9 dans nos deux modèles de la MH. Il est intéressant de constater que, malgré l'expression plus élevée de *htrm* dans les BACHD TG5, le profil de l'expression en ARNm et en protéine sont globalement supérieurs dans les TG9 lorsque comparé au TG5, au WT. Plus d'investigations seront nécessaire afin de mieux comprendre ces résultats. Une hypothèse pourrait être que le lieu d'insertion affecterait les mécanismes apoptotiques. En plus, il y a la différence de maturité pour des âges similaires entre souris et rats qui est à considérer.

Lorsqu'on compare les résultats obtenus dans les deux modèles animaux de la MH utilisés pour l'étude (tableau supplémentaire 1) on remarque que dans le niveau d'expression en ARNm de la caspase-3 augmente avec le vieillissement dans les BO des 2 modèles étudiés. Il est aussi intéressant d'observer que le niveau d'expression de l'ARNm et des formes protéiques caspase-8 augmente au cours du vieillissement du BO autant dans les YAC128 que les BACHD. Cette correspondance d'expression dans les deux modèles animaux utilisées pour l'étude confirme nos résultats d'expression et suggère une implication similaire de la caspase-8 dans les processus biologiques du vieillissement dans les deux modèles.

Caspase-3

Nous avons tout d'abord analysé l'expression de caspase-3, Caspase-3 est connu comme ayant un rôle essentiel dans l'apoptose et dans la MH. Cet enzyme effecteur jouerait un rôle essentiel dans la signalisation de la mort cellulaire programmée (Liu *et al.*, 1997, Enari *et al.*, 1998). Il est aussi connu que caspase-3 peut se faire cliver et ainsi être activé par la caspase-6 et la caspase-7 ainsi que caspase-9 actif peut cliver les caspase -6, -7 et -3. Le tout menant à la relâche du cytochrome-c de la mitochondrie et formera le complexe multimérique Apaf-1/cytochrome-c (Budihardjo *et al.*, 1999). Nous avons observé une diminution de l'expression de l'ARNm de caspase-3 dans les YAC128 présymptomatique lorsque comparé au contrôle dans le bulbe olfactif (BO) (figure 8A). Cependant les niveaux d'expression protéique de la forme pleine longueur et de la forme active de caspase-3 sont stables lorsque comparé au contrôle dans le modèle de souris de la MH, dans le BO des YAC128 présymptomatique (figure 8C).

Caspase-3 actif peut cliver la protéine huntingtine afin de générer un fragment qui peut être neuroprotecteur (Rigamonti et al., 2001, Zhang et al., 2006). Les fragments de caspase-3 de la huntingtine mutante ont déjà été détectés dans des cerveaux humains au tout début du diagnostic clinique de la maladie, mais ces derniers ne conduisent pas vers la neurotoxicité (Wellington et al., 2002, Wellington et al., 1998, Graham et al., 2006). Cependant, au stade présymptomatique dans les cerveaux humains, caspase-3 active n'est pas détectée (Graham et al., 2010) mais une augmentation de sa proforme a été détectée dans les cerveaux de patients atteints de la MH lors des derniers stades de la maladie (Graham et al., 2010). Des modèles murins de la MH dans lesquels la httm est résistante au clivage par la caspase-3 ou par la caspase-2, ont été créés et dans les deux cas, cette résistance au clivage n'était guère suffisante pour l'obtention d'un effet sur l'apparition des symptômes moteurs (Graham et al., 2006). Ces observations suggèrent que dans le processus de la neuroinflammation caspase-3, une caspase exécutrice en aval de caspase-8 (Venero et al., 2013) n'a pas encore été activé pour induire la neuroinflammation au stade présymptomatique. La diminution de l'expression en ARNm observé dans les YAC128 à 3 mois et l'absence de détection de caspase-3 dans les cerveaux humain présymptomatiques alors que l'augmentation de la proforme dans les cerveaux humains postsymptomatiques suggèrent que caspase-3 pourrait être impliqué dans les processus de neurodégénérescence tardif dans la MH. Pour cette raison, il pourrait être intéressant d'investiguer davantage le niveau d'expression de la caspase-3 dans les YAC128 postsymptomatique.

Caspase-8 :

Nous avons ensuite investigué l'expression de la caspase-8, une caspase dite initiatrice impliquée dans la voie de signalisation de Hip-1, une protéine interagissant avec htt. Une augmentation de l'ARNm de caspase-8 est observée dans les YAC128 à 12 mois, (figure 8H) et dans les rats BACHD de 6 mois (figure 11H). L'expression protéique en immunomarquage de la caspase-8 active à 12 mois présente une augmentation de cette forme dans le BO de YAC128 dans la couche granulaire et dans la couche plexiforme externe (figure 9C) suggérant que cette caspase pourrait intervenir dans le processus neuroinflammatoires dans le BO et ainsi engendré le déficit olfactif observé dans la MH (Venero *et al.*, 2013). Caspase-8 semble joué un rôle pivot tant dans la voie intrinsèque qu'extrinsèque de l'apoptose (Cowling

& Downward, 2002). Cependant, dans la MH, l'activation de la caspase-8 via la voie extrinsèque semble plus probable. En présence de la HTT normale, la protéine Hip-1 est liée à HTT. Cependant, en présence de la HTTm une plus grande quantité de Hip-1 se retrouve dissocié, suggérant une diminution de l'affinité de Hip-1 en présence de l'expansion de polyglutamine. La disponibilité de Hip-1 libre en présence de HTTm favorise la formation de l'hétérodimère pro-apoptotique Hip1 – Hip-1 pouvant recruter et activer la procaspase-8 et ainsi mener à l'apoptose observé dans la MH (Gervais *et al.*, 2002, Zuccato *et al.*, 2010). Ainsi, la formation de l'hétérodimère pro-apoptotique Hip1 – Hip-1 pourrait être responsable de l'augmentation de l'immunomarquage de caspase-8 active observée dans la couche granulaire et dans la couche plexiforme externe du BO dans souris YAC128.

Dans nos résultats, une diminution du niveau d'expression en ARNm de caspase-8 a été observé dans les YAC128 à 3 mois lorsque comparé au WT, alors qu'une augmentation a été constaté à 12 mois. L'augmentation dans niveau d'expression de l'ARNm à 12 mois chez les YAC128 et des formes protéiques à 3 mois chez les 2 modèles, YAC128 et BACHD, analysés suggèrent un mécanisme similaire déjà observé dans la mort neuronale par apoptose dans la MH, via Hip-1. La diminution de l'expression en ARNm de caspase-8 à 3 mois n'étant pas traduite par une variation similaire au niveau protéique à ce même âge pourrait de son côté suggérer une augmentation des processus de traduction en compensation pour l'activation de cette caspase. Comme davantage de procaspase-8 se ferait cliver pour induire son activation, la cellule chercherait à traduire davantage de procaspase-8 pour le maintien homéostatique cellulaire. Il se peut aussi que le signal de stress oxydatif a été donné et que la proforme de caspase-8 s'accumule afin d'être tôt au tard activé par clivage. Plus il y a de clivage et plus il y a de fragment actif et la cellule tente de compenser en réduisant l'ARNm de caspase-8. Il est aussi possible que le fragment actif soit moins dégradé et s'accumule dans les cellules. L'augmentation de caspase-8 suggèrent un mécanisme similaire déjà observé dans la mort neuronale par apoptose dans la MH, via Hip-1 par l'extension des motifs de polyglutamines.

Caspase-6

Caspase-6 jouerait un rôle déterminant dans la dégénération axonale, sous-jacent à la perte neuronale observée dans la MH et la maladie d'Alzheimer (Park *et al.*, 2010, Schoenmann *et al.*, 2010, Nikolaev *et al.*, 2009). En plus, dans la MH, le niveau de caspase-6 active serait

fortement corrélé au nombre de répétition CAG dans la protéine htt humaine et elle serait aussi inversement corrélé avec l'âge de l'apparition des premiers signes cliniques manifestés (Graham *et al.*, 2010). Il a été montré dans des modèles de souris que la présence d'une mutation à l'acide aminée 586 de la httm était suffisante pour inhiber le clivage induit par caspase-6 à ce site. L'inhibition de ce clivage est suffisant pour préserver le volume striatale, les fonctions cognitive et motrice dans les modèles murin YAC128 de la MH (Graham *et al.*, 2010, Graham *et al.*, 2006, Pouladi *et al.*, 2009, Metzler *et al.*, 2010) et prévenir l'altération de l'activité du récepteur NMDA extra synaptique (Milnerwood *et al.*, 2010). Il a été montré que les niveaux d'expression en ARNm de caspase-6 augmentaient à des stades précoces de la MH (niveau 1 et 2) dans le noyau caudé et dans le cortex moteur humain (Hodges *et al.*, 2006) et que l'immunoréactivité de caspase-6 active augmentait dans le striatum humain à tous les stades de la MH, du stade présymptomatique aux derniers stades de la MH (Graham *et al.*, 2010, Hermel *et al.*, 2004). La démonstration d'une augmentation de l'expression de caspase-6 a aussi été réalisée dans des modèles murins de la MH (Graham *et al.*, 2010). Les résultats présentement disponibles dans la littérature sur caspase-6 impliquent clairement caspase-6 dans la pathogénèse de la MH. Par contre, ces résultats ont été majoritairement obtenus dans certaines parties du cortex et dans le striatum, des régions fortement impliquées dans les fonctions motrices. Aucun de ces résultats n'a été obtenu dans les BO ou dans des régions du cortex olfactif. Afin de clarifier le rôle de la caspase-6 dans le déclin olfactif, nous avons analysé l'expression de caspase-6 dans le BO de nos deux modèles de la MH.

Dans le BO, une augmentation significative de l'expression protéique de caspase-6 active de p15 a été observée dans les YAC128 lorsque comparé au WT de 3 mois (figure 8F). Cependant, un résultat opposé a été observé dans les BACHD rat. En effet, contrairement au YAC128, l'expression protéique d'un fragment de caspase-6, soit le fragment p20p10, diminue dans les TG5 et dans les TG9 de 3 mois (figure 11F) ce qui suggère une différence de maturité associée à la longévité dans les modèles de même âge tel qu'expliqué précédemment. Le niveau de caspase-6 active a tendance à augmenter aux différents stades de développement de la MH et à travers l'évolution de la pathogénèse de la MH (Hodges *et al.*, 2006). Les niveaux protéiques de la forme longue et de la forme clivée de caspase-6 à 3

mois présente des niveaux d'expressions relativement similaire dans le BO entre les souris YAC128 et les souris contrôle.

L'amplification de l'immunoréactivité de caspase-6 active a été observé dans le striatum humain dans les derniers stades de la MH (Graham *et al.*, 2010, Hermel *et al.*, 2004). Nos résultats semblent corroborer ces résultats, puisqu'une augmentation de l'immunomarquage de la caspase-6 active à 12 mois a été observé dans le BO, le cortex piriforme (PC) et le cortex entorhinal (LEA) de YAC128 (figure 9A). Étonnamment, bien qu'un marquage axonal soit constaté dans les 3 régions cérébrales, dans le BO, le marquage est semblable principalement axonal lorsque comparé au PC et LEA (figure 9A). L'augmentation de l'expression de la caspase-6 active au niveau du PC et LEA a été confirmé par le marquage de l'un des substrats de caspase-6, soit tau clivé par caspase-6 (figure 9B) et au niveau du BO à l'aide de deux substrats : tau clivé par caspase-6 (figure 9B) et APP clivé par caspase-6 (figure 9D). Une augmentation de l'immunoréactivité de caspase-6 active a été constaté dans les 3 régions cérébrales analysées (figure 9A) corroborant une étude effectuée précédemment démontrant une augmentation de caspase-6 active dans le striatum (Graham *et al.*, 2010, Hermel *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que la caspase-6 peut avoir un rôle à jouer dans l'altération de la neurogenèse observé dans le BO des YAC128 et dans la diminution d'implantation de nouveaux neurones dans le BO dans les modèles de la MH.

En plus, dans la maladie de Parkinson, une étude sur des modèles murin a démontré que lors de la transplantation de cellules souches de la zone subventriculaire (SVZ) au niveau striatale, les cellules se différencies en cellules neuronales ressemblant au interneurones du BO (Cave *et al.*, 2014). Les caspases jouent un rôle dans la neurogenèse à l'âge adulte (Biebl *et al.*, 2005). Cette différenciation neuronale issu de cellule souche ressemble étrangement à ce qui est observé lors de la neurogenèse ce qui suggère que la caspase-6 aurait un rôle dans la différenciation des cellules souches neuronales durant le processus de la neurogenèse à l'âge adulte dans certaines maladies neurodégénératives.

Caspase-6 est souvent décrite comme une caspase effectrice mais certains résultats dans la littérature suggèrent qu'elle pourrait agir en amont de certaines caspases dans certaines

conditions, tel que lors de l'apoptose présente dans la MH (Graham *et al.*, 2011). Caspase-6 a déjà démontré son habilité à cliver et activer les caspase-2 et -8 (Declercq & VAN, 1999, Slee *et al.*, 1999, Cowling & Downward, 2002) afin d'induire la perméabilisation mitochondriale laquelle implique un relâche de cytochrome-c et l'activation de caspases exécutrices (Xanthoudakis *et al.*, 1999, Allsopp *et al.*, 2000, Liu *et al.*, 1996). Il est aussi connu que caspase-6 peut cliver et activer caspase-3, tant des modèles *ex vivo* que *in vitro* (Liu *et al.*, 1996, Xanthoudakis *et al.*, 1999, Allsopp *et al.*, 2000). De plus, il a été observé que l'activation de caspase-6 se ferait avant l'activation de caspase-3 dans les modèles *in vivo* (Henshall *et al.*, 2002, Ferrer *et al.*, 2000) et dans des tissus cérébraux atteint de maladies neurodégénératives (Graham *et al.*, 2010, Albrecht *et al.*, 2007). ce qui peut expliquer l'augmentation de la forme p15 de la caspase-6 à 3 mois (figure 8 D) et les niveau stable de la proforme et de la forme clivé de la caspase-3 (figure 8 C). Il est intéressant de souligner que les caspases ne semblent pas suivre tous les mêmes patrons d'expression. En effet, l'ARNm de caspase-6 et -8 tendent à être ou est significativement supérieur chez les YAC128 comparé au WT à 12 mois alors que le niveau d'ARNm de caspase-3 à 12 mois ne présente pas de différence significative entre les WT et les YAC128. Ces résultats suggèrent que le niveau d'expression de caspase-8 dans BO en ARNm dans le vieillissement tendent à augmenter, mais qu'en présence de la httm davantage d'ARNm de caspase-6 soit requise afin d'engendrer la pathologie, supportant le rôle de caspase-6 en amonts d'autre caspase.

Caspase-9

Le rôle de l'activation de procaspase-9 dans la voie extrinsèque de l'apoptose est bien connu. Lors de la relâche du cytochrome-c mitochondrial, l'apoptosome est formé, activant ainsi caspase-9 ce qui mènera éventuellement à l'activation de la procaspase-3 (Würstle *et al.*, 2012). Des modèles pathologiques autres que la MH suggérerait que caspase-9 pourrait être activé hâtivement pour réguler l'activation de caspase-6 et cette dernière influencerait alors l'activité de caspase-3 (Akpan *et al.*, 2011).

Dans les BO, les niveaux d'ARNm de caspase-9 est inférieurs à 12 mois dans les YAC128 comparativement au WT (figure 8K), des observations similaires ont été fait dans les BACHD de 6 mois (figure 11K). Les niveaux ARNm augmentent entre 3 mois et 12 mois tant dans les WT et les YAC128. Cependant, le niveau d'expression protéique ne semble pas

suivre la même tendance. En effet, la proforme de caspase-9 ne présente pas de différence significative avec les contrôles tant chez les YAC128 (figure 8L) que chez les rats BACHD présymptomatique (figure 11L). Une augmentation de la forme active de caspase-6 a été observée au stade présymptomatique alors qu'aucune variation n'a été remarquée pour caspase-3 et caspase-9. Ainsi, tout comme dans les cerveaux de patient de la MH dans lesquels une augmentation de la proforme de caspase-3 est seulement constatée dans les derniers stades de la maladie (Graham *et al.*, 2010), suggère l'activation de caspase-3 tardive dans les BO de cette caspase.

La caspase-9 est un médiateur précoce de la mort cellulaire dans les accidents vasculaires cérébraux qui conduit à l'activation de la caspase-6 (Akpan *et al.*, 2011). En plus, il a été démontré que la mort cellulaire est induite par apoptose dans la pathogenèse des maladies neurodégénératives (Kiechle *et al.*, 2002, Mattson, 2000, Tatton, 2000). La caspase-6 est activée dans les axones, en soutenant son rôle dans la dégénérescence axonale au cours de la mort neuronale (Nikolaev *et al.*, 2009). Dans le BO, une tendance pour une diminution de l'expression protéique de la caspase-9 activée p17 (figure 8L), une augmentation de la activée p15 de la caspase 6 (figure 8F) à 3 mois dans le BO et la tendance vers la dérégulation olfactive observé dans le modèle animal de la MH, les YAC 128 de 1 mois (figure 5C, D et F) suggère une dégénérescent axonale hâtive des OSN, car les OSN sont impliqué dans la reconnaissance et la transmission des signaux olfactifs vers le BO puis vers le cortex olfactif.

Selon la littérature, les activités de la caspase-9 et de la caspase-3 sont présentes dans le stade terminal de la MH (Kiechle *et al.*, 2002). Nous avons observé une tendance pour la diminution de l'activation de la caspase -9 active que nous avons observée à 3 mois (figure 8L), la diminution des niveaux d'ARNm à 12 mois chez la souris (figure 8K) et à 6 mois chez le rat (figure 11K) et la tendance pour l'augmentation des formes protéiques actives de caspase-3 à 3 mois (figure 8C et 11C). Dans le système olfactif de la souris, les caspases-3 et -9 sont exprimées dans les récepteurs neuronaux olfactifs des souris adultes, leur expression est concentrée dans les axones et leur activation sélective rétrograde l'apoptose dans les récepteurs neuronaux olfactifs après ablation des glomérules (GL) dans le bulbe olfactif (BO), lieu d'afférence des récepteurs (Cowan & Roskams, 2004). Un substrat de la

caspase-9 a permis d'observer chez la souris âgées l'activation de la caspase-9 non apoptotique dans le BO. Plusieurs régions lors du vieillissement du cerveau présentent un niveau accru d'activité de la caspase-9, y compris le BO. Le nombre de cellules en apoptose dans le BO âgé est beaucoup plus faible (<20%) que dans l'BO des jeunes souris et s'accompagne d'une diminution de l'expression de la procaspase-3. il y a une stratégie de survie pour les neurones du BO dans le temps pour qu'il puisse se régénérer, dans lesquels la machinerie apoptotique centrale en aval de la caspase-9 est inactivée (Ohsawa *et al.*, 2009). L'Apaf-1 médie par caspase-9 la régulation du développement des neurones sensoriels olfactifs (OSN), incluant les projections axonales, la formation des synapses et la maturation de ces neurones (Ohsawa *et al.*, 2010). Nos résultats en association avec la littérature suggèrent une aberration au niveau des récepteurs neuronal olfactif susceptible d'influencer le dérèglement olfactif dès un jeune âge. Les OSN sont les afférences de ces récepteurs et il est suggéré une dégénérescent axonale hâtive des OSN.

Conclusion

En conclusion, mon mémoire a permis la caractérisation des bulbes olfactifs (BO) et de certaines structures du cortex olfactif sur de modèles murins de la MH. Dans mon projet, j'ai observé que : (1) le développement du BO est influencé par la protéine htm, (2) la discrimination olfactive est influencé à la baisse, (3) les caspases-3, 8, 6 et 9 sont modulées dans le BO et dans le PC et le LEA, (4) un tendance pour une diminution de l'expression des neuroblastes et des neurones matures et (5) une modification des interneurones, de cellules radiales gliales de type 1 et des cellules microgliales.

Nous avons aussi observé des signes de neuroinflammation dans le BO des souris YAC128. La neuroinflammation influencerait le nombre de neurones présents et l'activation de microglies dans la région touchée, car une augmentation de la neuroinflammation modifie l'état des microglies et des astrocytes dans la région ciblée. Dans la MH, il y a dégénérescence neuronale, donc une perte neuronale. La diminution du nombre de neurones est accompagnée de la diminution de volume des régions. Un maintien de la densité neuronale (Slow *et al.*, 2003) a pu être observé dû à leurs diminutions proportionnelles. Il est aussi possible que l'activation de microglies et de cellules astrocytaires diminue la progression de l'atrophie des

régions cérébrales et aiderait ainsi au maintien du volume des structures cérébrales facilitant une stabilité de la densité neuronale.

Les caspases analysées lors de ce projet ne semblent pas s'activer tous au même stade du développement de la MH. En effet, aucun effet du génotype n'est observé à 3 mois sur l'expression de la forme active de caspase-3 et -9 alors que les caspase-6 et -8 voient leur fragment déjà augmenté à cet âge. Ces observations suggèrent que dans le processus de la neuroinflammation caspase-3 en aval de caspase-8 (Venero et al., 2013) n'aurait pas encore été activé pour induire la neuroinflammation au stade présymptomatique dans les BO. Cependant, il y a aussi une augmentation de l'immunoréactivité de caspase-6 active dans le cortex piriforme (PC) et cortex entorhinal (LEA) ainsi que dans le BO et une augmentation de caspase-6 active a aussi été observé dans le striatum (Graham *et al.*, 2010, Hermel *et al.*, 2004) ce qui suggère que caspase-6 a un rôle à jouer dans l'altération de la neurogenèse observé dans le BO des YAC128 et dans la diminution d'implantation de nouveaux neurones dans le BO dans les modèles de la MH. Plus d'investigation seront toutefois nécessaire afin de mieux comprendre le lien de causalité entre la neuroinflammation, l'activation des caspases et la neurogenèse.

Mon étude est pionnière car elle a servi à mettre en évidence que les caspases seraient des acteurs importants dans le mécanisme sous-jacent au déficit olfactif observé dans les modèles murins de la MH. L'étude n'avait jamais été fait auparavant. Les caspases ont des influences sur la neurogenèse, le comportement, le développement du BO et la neuroinflammation.

Perceptives

Pour faire suite à mon projet de maîtrise, il serait particulièrement intéressant de mieux définir le dérèglement olfactif par les tests olfactifs fait à 3, 6, 9 et 12 mois sur des YAC128 pour observer la régression attendue. Il serait aussi intéressant d'évaluer à différents intervalles de temps la neurogenèse, l'expression des caspases-3, 8, 6 et 9 et le développement du bulbes olfactifs (BO) afin de mieux comprendre la relation unissant ces derniers.

Afin de mieux cerner les différences cellulaires intrinsèque au BO, il pourrait aussi être fort intéressant d'effectuer de la colocalisation sur tissus et/ou cellules du BO (interneurones et/ou cellules tufted/mitrales) avec certaines caspases, partenaires d'interaction des caspases, tels que HIPPI et Hip-1, certains marqueurs de la maladie ou de la neurogenèse. De plus, il serait aussi particulièrement intéressant de mieux comprendre et de caractériser les NMDAR, acteurs importants dans l'excitotoxicité observée dans la MH, au niveau des glomérules du BO afin de comprendre son impact sur l'activation des caspases.

Pouvoir mieux comprendre les mécanismes sous-jacents au déficit olfactif dans ces modèles de la MH permettra ultimement une transposition à l'humain en étude clinique et permettra l'établissement de balise médicale fiable à des fins thérapeutiques.

Forces et limites de l'étude

Plusieurs régions olfactives ont été investiguées ce qui permet d'avoir une vue d'ensemble des événements dans le système olfactif. Cette étude exploratoire a permis de caractériser et de cerner certains mécanismes susceptibles d'être impliqués dans le déclin olfactif, et ce, avec une approche multidisciplinaire, touchant la mort cellulaire, la neurogenèse, l'inflammation et l'olfaction. De plus, diverses techniques autant moléculaires que in-vivo ont été utilisées ont permis de confirmer nos résultats et de pousser notre compréhension des résultats obtenus en tests comportementaux.

Il s'agissait d'une étude exploratoire, donc peu de marqueurs ont été utilisés afin d'obtenir une vue d'ensemble et permettre de cibler des mécanismes à investiguer plus en profondeur dans le futur. Pour cette étude, des tissus murins ont été utilisés. Chaque modèle animal comporte des avantages et des lacunes. Les rongeurs possèdent plusieurs différences avec les humains, notamment au niveau de la neurogenèse et de l'olfaction, il peut y avoir des différences entre nos résultats et ce qu'il se passe chez l'humain. Donc, il pourrait être intéressant de confirmer ces résultats chez l'humain avec des tests olfactifs déjà mis en place dans notre laboratoire. Contrairement à plusieurs études dans lesquelles un seul modèle est utilisé, nous avons utilisé 2 modèles de la MH déjà bien caractérisés et représentatifs de la maladie afin de confirmer nos résultats.

Remerciement

Je voudrais remercier le Pre Graham pour l'opportunité qu'elle m'a offert de faire partie de son équipe. Ce fut un plaisir de travailler avec elle et avec l'ensemble de son équipe. Par ce fait, j'ai pu acquérir des connaissances clés ainsi que d'innover dans le cadre de ses compétences. Je remercie également les assistantes de recherche qui ont été présente au cours de la maîtrise, Mélissa Lessard-Beaudoin et Marie-Josée Demers. Je tiens à les remercier chaleureusement pour leurs soutiens, leurs conseils pertinents ainsi que leurs présences. Je me dois aussi de remercier les évaluateurs de mon mémoire pour leur temps et leurs judicieux conseils. Un merci tout spécial au département de physiologie qui m'a épaulé et fait preuve d'une grande compréhension lorsque plus rien n'allait!

ANNEXES

Tableau supplémentaire

Tableau 1 supplémentaire : Résumé de différentes expressions dans les caspases présentent dans le BO

	YAC128				BACHD		
	Protéine		ARNm	IHC	Protéine		ARNm
	Proforme	fragment			Proforme	fragment	
Caspase-3	---	---	↑ 3 vs 12 mois		---	---	↑ TG9 6 mois
Caspase-8	↑ 3 mois	↑ 3 mois	↓ 3 mois ↑ 12 mois	x (fragment actif)	↑ TG9 3 mois	↑ TG9 3 mois	↑ TG9 6 mois
Caspase-6	---	↑ 3 mois	---	x (fragment actif)		↓ TG5, TG9 3 mois	↑ TG9 3 mois
Caspase-9	---	---	↓ 12 mois		---	---	↓ TG9 3 mois ↓ TG5 6 mois

Tableau synthèse de variations d'expressions en protéine et en ARNm observées dans l'étude pour différentes caspases dans le BO en présence dans deux modèles animaux de la MH, YAC128 (souris) et BACHD (rat).

Figures supplémentaires

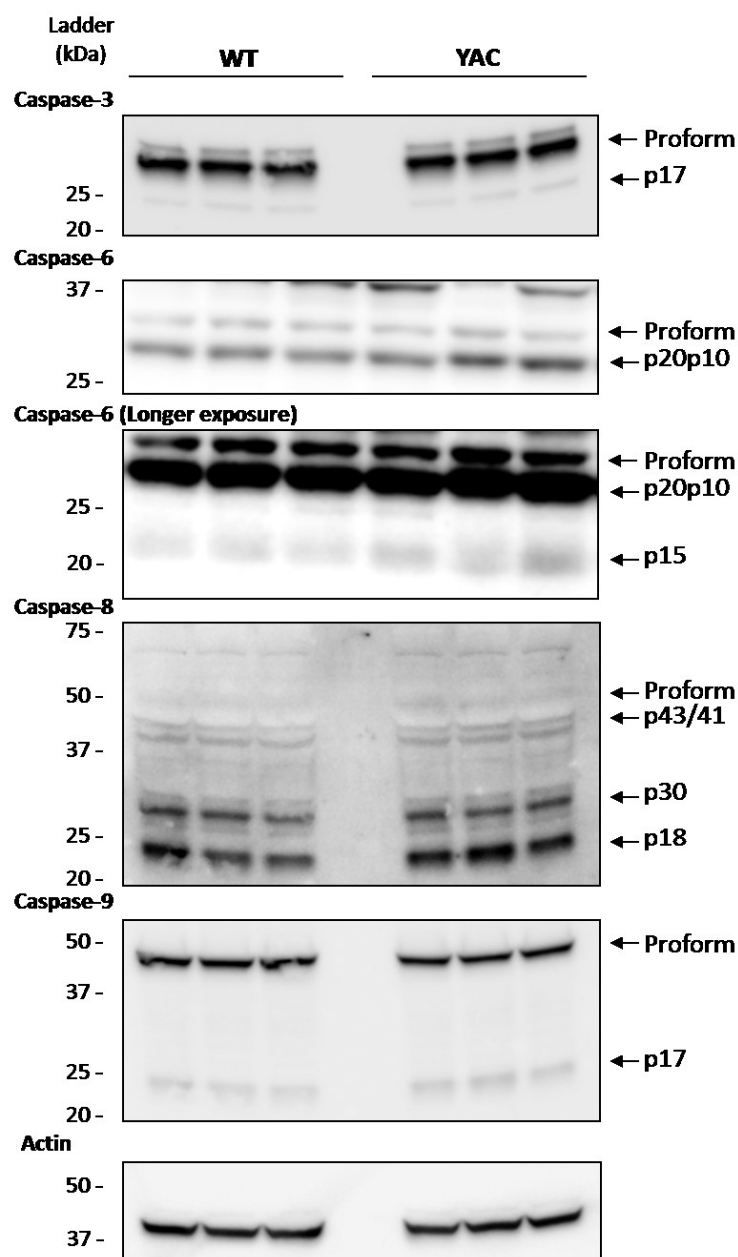


Figure 1 supplémentaire. Immunobuvardage de type Western blot des caspase-3, -6, -8 et -9 du bulbe olfactif de souris YAC128.

Immunobuvardage de type Western Blot présentatif de BO lysés sont présentés. Le contrôle est l'actine.

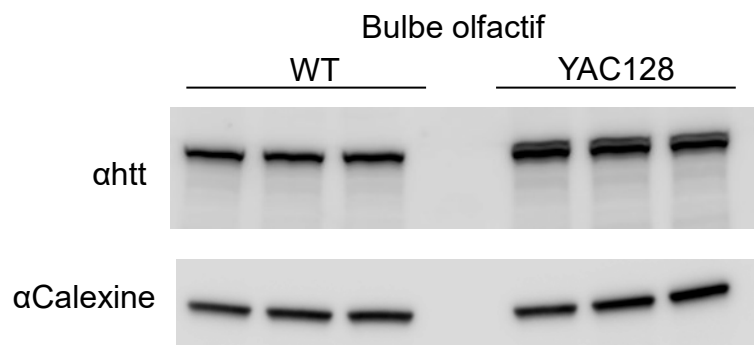


Figure 2 supplémentaire. Immunobuvardage de type Western blot de la protéine htt dans le bulbe olfactif de souris YAC128.

Immunobuvardage de type Western Blot représentatif de BO lysés sont présentés. Le contrôle est la calexine.

Autorisation de l'éditeur pour les droits d'auteurs

Figure 1 de mon mémoire

NATURE PUBLISHING GROUP LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Aug 14, 2016

This Agreement between Melissa Laroche ("You") and Nature Publishing Group ("Nature Publishing Group") consists of your license details and the terms and conditions provided by Nature Publishing Group and Copyright Clearance Center.

License Number	3927830679741
License date	Aug 14, 2016
Licensed Content Publisher	Nature Publishing Group
Licensed Content Publication	Nature Reviews Disease Primers
Licensed Content Title	Huntington disease
Licensed Content Author	Gillian P. Bates, Ray Dorsey, James F. Gusella, Michael R. Hayden, Chris Kay et al.
Licensed Content Date	Apr 23, 2015
Licensed Content Volume Number	1
Type of Use	reuse in a dissertation / thesis
Requestor type	academic/educational
Format	electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
High-res required	no
Figures	Figure 1 Natural history of clinical Huntington disease
Author of this NPG article	no
Your reference number	
Title of your thesis / dissertation	L'activation de caspases dans le bulbe olfactif et l'altération de la neurogenèse observée dans des modèles de rongeurs de la maladie de Huntington
Expected completion date	Jan 2017
Estimated size (number of pages)	90
Requestor Location	Melissa Laroche

Canada
Attn: Melissa Laroche
Invoice
Melissa Laroche

Billing Type

Billing Address

Canada
Attn: Melissa Laroche
0.00 CAD

Total

Terms and Conditions

Terms and Conditions for Permissions

Nature Publishing Group hereby grants you a non-exclusive license to reproduce this material for this purpose, and for no other use, subject to the conditions below:

1. NPG warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of this material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to Nature Publishing Group and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version). If the credit line on any part of the material you have requested indicates that it was reprinted or adapted by NPG with permission from another source, then you should also seek permission from that source to reuse the material.
2. Permission granted free of charge for material in print is also usually granted for any electronic version of that work, provided that the material is incidental to the work as a whole and that the electronic version is essentially equivalent to, or substitutes for, the print version. Where print permission has been granted for a fee, separate permission must be obtained for any additional, electronic re-use (unless, as in the case of a full paper, this has already been accounted for during your initial request in the calculation of a print run). NB: In all cases, web-based use of full-text articles must be authorized separately through the 'Use on a Web Site' option when requesting permission.
3. Permission granted for a first edition does not apply to second and subsequent editions and for editions in other languages (except for signatories to the STM Permissions Guidelines, or where the first edition permission was granted for free).
4. Nature Publishing Group's permission must be acknowledged next to the figure, table or abstract in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figure/table/abstract, and must be hyperlinked to the journal's homepage.
5. The credit line should read:
Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)
For AOP papers, the credit line should read:
Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME], advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].XXXXX)

Note: For republication from the *British Journal of Cancer*, the following credit lines apply.

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication) For AOP papers, the credit line should read:

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME], advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].XXXXX)

6. Adaptations of single figures do not require NPG approval. However, the adaptation should be credited as follows:

Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

Note: For adaptation from the *British Journal of Cancer*, the following credit line applies.

Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

7. Translations of 401 words up to a whole article require NPG approval. Please visit <http://www.macmillanmedicalcommunications.com> for more information. Translations of up to a 400 words do not require NPG approval. The translation should be credited as follows:

Translated by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication).

Note: For translation from the *British Journal of Cancer*, the following credit line applies.

Translated by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

We are certain that all parties will benefit from this agreement and wish you the best in the use of this material. Thank you.

Special Terms:

v1.1

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

52	-5555	NPG	Nature Reviews [98374	1
570				printablelicense	
	5917121	/ App/ Includes/ P	/ App/ PrintableLic	/ App/ Includes/ N	1471208604187
xnt811to6pECak(unknown	unknown			

Tableau 1 de mon mémoire



01_02

PERMISSION LETTER

September 19, 2016

Springer reference

Behavioral Neurobiology of Huntington's Disease and Parkinson's Disease
 Volume 22 of the series *Current Topics in Behavioral Neurosciences* pp 101-133
 Date: 20 December 2013
Mouse Models of Huntington's Disease
 Simon P. Brooks, Stephen B. Dunnett
 DOI 10.1007/7854_2013_256
 Print ISBN 978-3-662-46343-7
 Online ISBN 978-3-662-46344-4

Material to be reused: Table 1

Your project

Requestor: Mélissa Laroche

University: University of Sherbrooke

Purpose: Dissertation/Thesis

With reference to your request to reuse material in which Springer controls the copyright, our permission is granted free of charge under the following conditions:

Springer material

- represents original material which does not carry references to other sources (if material in question refers with a credit to another source, authorization from that source is required as well);
- requires full credit (Springer book/journal title, chapter/article title, volume, year of publication, page, name(s) of author(s), original copyright notice) to the publication in which the material was originally published by adding: "With permission of Springer";
- figures, illustrations, and tables may be altered minimally to serve your work. Any other abbreviations, additions, deletions and/or any other alterations shall be made only with prior written authorization of the author;
- Springer does not supply original artwork or content.

This permission

- is non-exclusive;
- is valid for one-time use only for the purpose of defending your thesis limited to university-use only and with a maximum of 100 extra copies in paper. If the thesis is going to be published, permission needs to be reobtained.
- includes use in an electronic form, provided it is an author-created version of the thesis on his/her own website and his/her university's repository, including UMI (according to the definition on the Sherpa website: <http://www.sherpa.ac.uk/romeo/>);
- is subject to courtesy information to the author (address is given in the publication);
- is personal to you and may not be sublicensed, assigned, or transferred by you to any other person without Springer's written permission;
- is only valid if no personal rights, trademarks, or competitive products are infringed.

This license is valid only when the conditions noted above are met.

Permission free of charge does not prejudice any rights we might have to charge for reproduction of our copyrighted material in the future.

Branch of Springer-Verlag GmbH, Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany | Amtsgericht Berlin-Charlottenburg, HRB 91861 B
 Managing Directors: Dirk Haack, Martin Möx, Peter Hendriks | Springer is part of Springer Science+Business Media

Figure 2, 3 de mon mémoire



01_02

PERMISSION LETTER

September 20, 2016

Springer reference

The Olfactory System

From Odor Molecules to Motivational Behaviors

Editors: Kensaku Mori

© Springer Japan 2014

Material to be reused: Figure 1.3, Figure 7.1 and Figure 7.12

DOI 10.1007/978-4-431-54376-3_7

Print ISBN 978-4-431-54376-3

Online ISBN 978-4-431-54376-3

Your project

Requestor: Méliissa Laroche

Student master's degree

Laboratory of Dre Rona Graham

University of Sherbrooke, Faculty of Medicine and health sciences, Dep. Pharmacology and Physiology,

University: University of Sherbrooke

Purpose: Dissertation/Thesis

With reference to your request to reuse material in which Springer controls the copyright, our permission is granted free of charge under the following conditions:

Springer material

- represents original material which does not carry references to other sources (if material in question refers with a credit to another source, authorization from that source is required as well);
- requires full credit (Springer book/journal title, chapter/article title, volume, year of publication, page, name(s) of author(s), original copyright notice) to the publication in which the material was originally published by adding: "With permission of Springer";
- figures, illustrations, and tables may be altered minimally to serve your work. Any other abbreviations, additions, deletions and/or any other alterations shall be made only with prior written authorization of the author;
- Springer does not supply original artwork or content.

This permission

- is non-exclusive;
- is valid for one-time use only for the purpose of defending your thesis limited to university-use only and with a maximum of 100 extra copies in paper. If the thesis is going to be published, permission needs to be reobtained.
- includes use in an electronic form, provided it is an author-created version of the thesis on his/her own website and his/her university's repository, including UMI (according to the definition on the Sherpa website: <http://www.sherpa.ac.uk/romeo/>);
- is subject to courtesy information to the author (address is given in the publication);
- is personal to you and may not be sublicensed, assigned, or transferred by you to any other person without Springer's written permission;
- is only valid if no personal rights, trademarks, or competitive products are infringed.

This license is valid only when the conditions noted above are met.

Branch of Springer-Verlag GmbH, Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany | Amtsgericht Berlin-Charlottenburg, HRB 91881 | Managing Directors: Dirk Haack, Martin Mos, Peter Hendriks | Springer is part of Springer Science+Business Media

LISTE DES RÉFÉRENCES

- Aggarwal, M., Duan, W., Hou, Z., Rakesh, N., Peng, Q., Ross, C. A., Miller, M. I., Mori, S. & Zhang, J. (2012). *Neuroimage* **60**, 2086-2095.
- Akpan, N., Serrano-Saiz, E., Zacharia, B. E., Otten, M. L., Ducruet, A. F., Snipas, S. J., Liu, W., Velloza, J., Cohen, G., Sosunov, S. A., Frey, W. H., 2nd, Salvesen, G. S., Connolly, E. S., Jr. & Troy, C. M. (2011). *J Neurosci* **31**, 8894-8904.
- Albin, R. L. & Gilman, S. (1989). *Eur J Pharmacol* **173**, 113-114.
- Albin, R. L., Young, A. B. & Penney, J. B. (1989). *Trends Neurosci* **12**, 366-375.
- Albrecht, S., Bourdeau, M., Bennett, D., Mufson, E. J., Bhattacharjee, M. & LeBlanc, A. C. (2007). *The American journal of pathology* **170**, 1200-1209.
- Allsopp, T. E., McLuckie, J., Kerr, L. E., Macleod, M., Sharkey, J. & Kelly, J. S. (2000). *Cell Death Differ* **7**, 984-993.
- Alonso, M., Viollet, C., Gabelle, M.-M., Meas-Yedid, V., Olivo-Marin, J.-C. & Lledo, P.-M. (2006). *The Journal of neuroscience* **26**, 10508-10513.
- Alvarez-Buylla, A. & García-Verdugo, J. M. (2002). *The Journal of neuroscience* **22**, 629-634.
- Alvarez-Buylla, A., García-Verdugo, J. M. & Tramontin, A. D. (2001). *Nature Reviews Neuroscience* **2**, 287-293.
- Andrew, S. E., Goldberg, Y. P., Kremer, B., Telenius, H., Theilmann, J., Adam, S., Starr, E., Squitieri, F., Lin, B. & Kalchman, M. A. (1993). *Nature genetics* **4**, 398-403.
- Axel, R. (1995). *Sci Am* **273**, 154-159.
- Aylward, E. H., Brandt, J., Codori, A. M., Mangus, R. S., Barta, P. E. & Harris, G. J. (1994). *Neurology* **44**, 823-828.
- Aylward, E. H., Codori, A. M., Barta, P. E., Pearlson, G. D., Harris, G. J. & Brandt, J. (1996). *Arch Neurol* **53**, 1293-1296.
- Bachoud-Levi, A. C., Maison, P., Bartolomeo, P., Boisse, M. F., Dalla Barba, G., Ergis, A. M., Baudic, S., Degos, J. D., Cesaro, P. & Peschanski, M. (2001). *Neurology* **56**, 1052-1058.
- Bacon Moore, A. S., Paulsen, J. S. & Murphy, C. (1999). *J Clin Exp Neuropsychol* **21**, 341-351.
- Bates, G. P., Dorsey, R., Gusella, J. F., Hayden, M. R., Kay, C., Leavitt, B. R., Nance, M., Ross, C. A., Scahill, R. I., Wetzel, R., Wild, E. J. & Tabrizi, S. J. (2015). *Nature Reviews Disease Primers*, 15005.
- Beal, M. F., Ellison, D. W., Mazurek, M. F., Swartz, K. J., Malloy, J. R., Bird, E. D. & Martin, J. B. (1988). *J Neurol Sci* **84**, 51-61.
- Bédard, A. & Parent, A. (2004). *Developmental brain research* **151**, 159-168.
- Beglinger, L. J., O'Rourke, J. J., Wang, C., Langbehn, D. R., Duff, K., Paulsen, J. S. & Huntington Study Group, I. (2010). *Psychiatry Res* **178**, 414-418.
- Beighton, P. & Hayden, M. R. (1981). *S Afr Med J* **59**, 250.
- Belluzzi, O., Benedusi, M., Ackman, J. & LoTurco, J. J. (2003). *The Journal of neuroscience* **23**, 10411-10418.
- Bergmann, O., Liebl, J., Bernard, S., Alkass, K., Yeung, M. S., Steier, P., Kutschera, W., Johnson, L., Landen, M., Druid, H., Spalding, K. L. & Frisen, J. (2012). *Neuron* **74**, 634-639.

- Bernier, P. J., Vinet, J., Cossette, M. & Parent, A. (2000). *Neuroscience research* **37**, 67-78.
- Bhardwaj, R. D., Curtis, M. A., Spalding, K. L., Buchholz, B. A., Fink, D., Bjork-Eriksson, T., Nordborg, C., Gage, F. H., Druid, H., Eriksson, P. S. & Frisen, J. (2006). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 12564-12568.
- Biebl, M., Winner, B. & Winkler, J. (2005). *Neuroreport* **16**, 1147-1150.
- Björkqvist, M., Wild, E. J., Thiele, J., Silvestroni, A., Andre, R., Lahiri, N., Raibon, E., Lee, R. V., Benn, C. L. & Soulet, D. (2008). *The Journal of experimental medicine* **205**, 1869-1877.
- Bjorkqvist, M., Wild, E. J., Thiele, J., Silvestroni, A., Andre, R., Lahiri, N., Raibon, E., Lee, R. V., Benn, C. L., Soulet, D., Magnusson, A., Woodman, B., Landles, C., Pouladi, M. A., Hayden, M. R., Khalili-Shirazi, A., Lowdell, M. W., Brundin, P., Bates, G. P., Leavitt, B. R., Moller, T. & Tabrizi, S. J. (2008). *J Exp Med* **205**, 1869-1877.
- Borrell-Pages, M., Zala, D., Humbert, S. & Saudou, F. (2006). *Cell Mol Life Sci* **63**, 2642-2660.
- Boutin, C., Hardt, O., de Chevigny, A., Core, N., Goebbels, S., Seidenfaden, R., Bosio, A. & Cremer, H. (2010). *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 1201-1206.
- Breton-Provencher, V. & Saghatelian, A. (2012). *Behavioural brain research* **227**, 480-489.
- Breunig, J. J., Arellano, J. I., Macklis, J. D. & Rakic, P. (2007). *Cell stem cell* **1**, 612-627.
- Brodoehl, S., Klingner, C., Volk, G. F., Bitter, T., Witte, O. W. & Redecker, C. (2012). *Mov Disord* **27**, 1019-1025.
- Brooks, S. P. & Dunnett, S. B. (2015). *Curr Top Behav Neurosci* **22**, 101-133.
- Brown, J. P., Couillard-Després, S., Cooper-Kuhn, C. M., Winkler, J., Aigner, L. & Kuhn, H. G. (2003). *Journal of Comparative Neurology* **467**, 1-10.
- Buck, L. & Axel, R. (1991). *Cell* **65**, 175-187.
- Budihardjo, I., Oliver, H., Lutter, M., Luo, X. & Wang, X. (1999). *Annu Rev Cell Dev Biol* **15**, 269-290.
- Burns, A., Folstein, S., Brandt, J. & Folstein, M. (1990). *J Nerv Ment Dis* **178**, 20-26.
- Buschhuter, D., Smitka, M., Puschmann, S., Gerber, J. C., Witt, M., Abolmaali, N. D. & Hummel, T. (2008). *Neuroimage* **42**, 498-502.
- Bylsma, F. W., Moberg, P. J., Doty, R. L. & Brandt, J. (1997). *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* **9**, 598-600.
- Carleton, A., Petreanu, L. T., Lansford, R., Alvarez-Buylla, A. & Lledo, P.-M. (2003). *Nature neuroscience* **6**, 507-518.
- Carroll, J. B., Lerch, J. P., Franciosi, S., Spreeuw, A., Bissada, N., Henkelman, R. M. & Hayden, M. R. (2011). *Neurobiol Dis* **43**, 257-265.
- Cattaneo, E., Rigamonti, D., Goffredo, D., Zuccato, C., Squitieri, F. & Sipione, S. (2001). *Trends Neurosci* **24**, 182-188.
- Cave, J. W., Wang, M. & Baker, H. (2014). *Frontiers in neuroscience* **8**.
- Caviston, J. P. & Holzbaur, E. L. (2009). *Trends in cell biology* **19**, 147-155.
- Chen, Z. Y., Jing, D., Bath, K. G., Ieraci, A., Khan, T., Siao, C. J., Herrera, D. G., Toth, M., Yang, C., McEwen, B. S., Hempstead, B. L. & Lee, F. S. (2006). *Science* **314**, 140-143.
- Colton, C. A., Needham, L. K., Brown, C., Cook, D., Rasheed, K., Burke, J. R., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E. & Vitek, M. P. (2004). *J Neuroimmunol* **147**, 62-67.
- Cornett, J., Cao, F., Wang, C. E., Ross, C. A., Bates, G. P., Li, S. H. & Li, X. J. (2005). *Nat Genet* **37**, 198-204.

- Corotto, F., Henegar, J. & Maruniak, J. (1994). *Neuroscience* **61**, 739-744.
- Cossette, M., Parent, A. & Lévesque, D. (2004). *European Journal of Neuroscience* **20**, 2089-2095.
- Costantini, F. & D'amato, F. R. (2005). *Dong wu xue bao.[Acta zoologica Sinica]* **52**, 619-633.
- Cowling, V. & Downward, J. (2002). *Cell death and differentiation* **9**, 1046-1056.
- Crawley, J. N. (2008). *Neuron* **57**, 809-818.
- Crotti, A., Benner, C., Kerman, B. E., Gosselin, D., Lagier-Tourenne, C., Zuccato, C., Cattaneo, E., Gage, F. H., Cleveland, D. W. & Glass, C. K. (2014). *Nat Neurosci* **17**, 513-521.
- Cummings, J. L. (1995). *Adv Neurol* **65**, 179-186.
- Curtis, M. A., Eriksson, P. S. & Faull, R. L. (2007). *Clin Exp Pharmacol Physiol* **34**, 528-532.
- Declercq, W. & VAN, D. (1999). *Cell Death Differ* **6**, 1117-1124.
- Delatycki, M. B. & Bandmann, O. (2016). Huntington disease More common than you think?: AAN Enterprises.
- Delmaire, C., Dumas, E. M., Sharman, M. A., van den Bogaard, S. J., Valabregue, R., Jauffret, C., Justo, D., Reilmann, R., Stout, J. C., Craufurd, D., Tabrizi, S. J., Roos, R. A., Durr, A. & Lehericy, S. (2013). *Hum Brain Mapp* **34**, 2141-2153.
- DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K., Schwarz, C., Meloni, A., Young, C., Martin, E., Vonsattel, J. P., Carraway, R., Reeves, S. A. & et al. (1995). *Neuron* **14**, 1075-1081.
- Doorn, K. J., Goudriaan, A., Blits-Huizinga, C., Bol, J. G., Rozemuller, A. J., Hoogland, P. V., Lucassen, P. J., Drukarch, B., Berg, W. D. & Dam, A. M. (2014). *Brain Pathology* **24**, 152-165.
- Doty, R. L. (1986). *Experientia* **42**, 257-271.
- Doty, R. L., Deems, D. A. & Stellar, S. (1988). *Neurology* **38**, 1237-1237.
- Dragatsis, I., Levine, M. S. & Zeitlin, S. (2000). *Nat Genet* **26**, 300-306.
- Duyao, M. P., Auerbach, A. B., Ryan, A., Persichetti, F., Barnes, G. T., McNeil, S. M., Ge, P., Vonsattel, J. P., Gusella, J. F., Joyner, A. L. & et al. (1995). *Science* **269**, 407-410.
- Ellrichmann, G., Reick, C., Saft, C. & Linker, R. A. (2013). *Clin Dev Immunol* **2013**, 541259.
- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A. & Nagata, S. (1998). *Nature* **391**, 43-50.
- Engelender, S., Sharp, A. H., Colomer, V., Tokito, M. K., Lanahan, A., Worley, P., Holzbaur, E. L. & Ross, C. A. (1997). *Hum Mol Genet* **6**, 2205-2212.
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S. & Weiss, S. (2004). *The Journal of neuroscience* **24**, 8354-8365.
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Bjork-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A. & Gage, F. H. (1998). *Nat Med* **4**, 1313-1317.
- Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H. & Frisen, J. (2014). *Cell* **156**, 1072-1083.
- Evans, S. J., Douglas, I., Rawlins, M. D., Wexler, N. S., Tabrizi, S. J. & Smeeth, L. (2013). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **84**, 1156-1160.
- Ferrante, R. J., Gutekunst, C. A., Persichetti, F., McNeil, S. M., Kowall, N. W., Gusella, J. F., MacDonald, M. E., Beal, M. F. & Hersch, S. M. (1997). *J Neurosci* **17**, 3052-3063.
- Ferrante, R. J., Kowall, N. W., Beal, M. F., Richardson, E. P., Jr., Bird, E. D. & Martin, J. B. (1985). *Science* **230**, 561-563.

- Ferrer, I., Lopez, E., Blanco, R., Rivera, R., Krupinski, J. & Marti, E. (2000). *Acta Neuropathol* **99**, 245-256.
- Fisher, E. R. & Hayden, M. R. (2014). *Mov Disord* **29**, 105-114.
- Foroud, T., Gray, J., Ivashina, J. & Conneally, P. M. (1999). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **66**, 52-56.
- Fukunaga, I., Berning, M., Kollo, M., Schmaltz, A. & Schaefer, A. T. (2012). *Neuron* **75**, 320-329.
- Gafni, J., Hermel, E., Young, J. E., Wellington, C. L., Hayden, M. R. & Ellerby, L. M. (2004). *J Biol Chem* **279**, 20211-20220.
- Gauthier, L. R., Charrin, B. C., Borrell-Pages, M., Dompierre, J. P., Rangone, H., Cordelieres, F. P., De Mey, J., MacDonald, M. E., Lessmann, V., Humbert, S. & Saudou, F. (2004). *Cell* **118**, 127-138.
- Gervais, F. G., Singaraja, R., Xanthoudakis, S., Gutekunst, C. A., Leavitt, B. R., Metzler, M., Hackam, A. S., Tam, J., Vaillancourt, J. P., Houtzager, V., Rasper, D. M., Roy, S., Hayden, M. R. & Nicholson, D. W. (2002). *Nat Cell Biol* **4**, 95-105.
- Gil, J. M., Mohapel, P., Araújo, I. M., Popovic, N., Li, J.-Y., Brundin, P. & Petersén, Å. (2005). *Neurobiology of disease* **20**, 744-751.
- Goektas, O., Schmidt, F., Bohner, G., Erb, K., Ludemann, L., Dahlslett, B., Harms, L. & Fleiner, F. (2011). *Rhinology* **49**, 221-226.
- Gogos, J. A., Osborne, J., Nemes, A., Mendelsohn, M. & Axel, R. (2000). *Cell* **103**, 609-620.
- Goldberg, Y. P., Nicholson, D. W., Rasper, D. M., Kalchman, M. A., Koide, H. B., Graham, R. K., Bromm, M., Kazemi-Esfarjani, P., Thornberry, N. A., Vaillancourt, J. P. & Hayden, M. R. (1996). *Nature genetics* **13**, 442-449.
- Graham, R. K., Deng, Y., Carroll, J., Vaid, K., Cowan, C., Pouladi, M. A., Metzler, M., Bissada, N., Wang, L., Faull, R. L., Gray, M., Yang, X. W., Raymond, L. A. & Hayden, M. R. (2010). *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **30**, 15019-15029.
- Graham, R. K., Deng, Y., Slow, E. J., Haigh, B., Bissada, N., Lu, G., Pearson, J., Shehadeh, J., Bertram, L., Murphy, Z., Warby, S. C., Doty, C. N., Roy, S., Wellington, C. L., Leavitt, B. R., Raymond, L. A., Nicholson, D. W. & Hayden, M. R. (2006). *Cell* **125**, 1179-1191.
- Graham, R. K., Ehrnhoefer, D. E. & Hayden, M. R. (2011). *Trends in neurosciences* **34**, 646-656.
- Gray, M., Shirasaki, D. I., Cepeda, C., Andre, V. M., Wilburn, B., Lu, X. H., Tao, J., Yamazaki, I., Li, S. H., Sun, Y. E., Li, X. J., Levine, M. S. & Yang, X. W. (2008a). *J Neurosci* **28**, 6182-6195.
- Gray, M., Shirasaki, D. I., Cepeda, C., Andre, V. M., Wilburn, B., Lu, X. H., Tao, J., Yamazaki, I., Li, S. H., Sun, Y. E., Li, X. J., Levine, M. S. & Yang, X. W. (2008b). *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **28**, 6182-6195.
- Gribaudo, S., Bovetti, S., Garzotto, D., Fasolo, A. & De Marchis, S. (2009). *J Comp Neurol* **517**, 683-694.
- Gudziol, V., Buschhuter, D., Abolmaali, N., Gerber, J., Rombaux, P. & Hummel, T. (2009). *Brain* **132**, 3096-3101.
- Guo, L., LaDu, M. J. & Van Eldik, L. J. (2004). *J Mol Neurosci* **23**, 205-212.
- Gusella, J. F. (1991). *Adv Hum Genet* **20**, 125-151.

- Gutekunst, C. A., Levey, A. I., Heilman, C. J., Whaley, W. L., Yi, H., Nash, N. R., Rees, H. D., Madden, J. J. & Hersch, S. M. (1995). *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 8710-8714.
- Hackam, A. S., Yassa, A. S., Singaraja, R., Metzler, M., Gutekunst, C. A., Gan, L., Warby, S., Wellington, C. L., Vaillancourt, J., Chen, N., Gervais, F. G., Raymond, L., Nicholson, D. W. & Hayden, M. R. (2000). *J Biol Chem* **275**, 41299-41308.
- Haehner, A., Rodewald, A., Gerber, J. C. & Hummel, T. (2008). *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **134**, 621-624.
- Hamilton, J. M., Murphy, C. & Paulsen, J. S. (1999). *J Int Neuropsychol Soc* **5**, 609-615.
- Hammer, R. E., Maika, S. D., Richardson, J. A., Tang, J.-P. & Taurog, J. D. (1990). *Cell* **63**, 1099-1112.
- Harjes, P. & Wanker, E. E. (2003). *Trends Biochem Sci* **28**, 425-433.
- Harry, G. J. & Kraft, A. D. (2008). *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* **4**, 1265-1277.
- Hayden, M. R., Soles, J. A. & Ward, R. H. (1985). *Clin Genet* **28**, 100-105.
- Heimer, L. (2014). *American Journal of Psychiatry*.
- Henshall, D. C., Skradski, S. L., Meller, R., Araki, T., Minami, M., Schindler, C. K., Lan, J. Q., Bonislawski, D. P. & Simon, R. P. (2002). *Neurobiol Dis* **10**, 71-87.
- Hermel, E., Gafni, J., Propp, S., Leavitt, B., Wellington, C., Young, J., Hackam, A., Logvinova, A., Peel, A. & Chen, S. (2004). *Cell Death & Differentiation* **11**, 424-438.
- Hirsch, E. C. & Hunot, S. (2009). *The Lancet Neurology* **8**, 382-397.
- Hobbs, N. Z., Barnes, J., Frost, C., Henley, S. M., Wild, E. J., Macdonald, K., Barker, R. A., Scahill, R. I., Fox, N. C. & Tabrizi, S. J. (2010). *AJNR Am J Neuroradiol* **31**, 1036-1041.
- Hobbs, N. Z., Henley, S. M., Wild, E. J., Leung, K. K., Frost, C., Barker, R. A., Scahill, R. I., Barnes, J., Tabrizi, S. J. & Fox, N. C. (2009). *Neuroimage* **47**, 1659-1665.
- Hodges, A., Strand, A. D., Aragaki, A. K., Kuhn, A., Sengstag, T., Hughes, G., Elliston, L. A., Hartog, C., Goldstein, D. R., Thu, D., Hollingsworth, Z. R., Collin, F., Synek, B., Holmans, P. A., Young, A. B., Wexler, N. S., Delorenzi, M., Kooperberg, C., Augood, S. J., Faull, R. L., Olson, J. M., Jones, L. & Luthi-Carter, R. (2006). *Human molecular genetics* **15**, 965-977.
- Hodgson, J. G., Agopyan, N., Gutekunst, C. A., Leavitt, B. R., LePiane, F., Singaraja, R., Smith, D. J., Bissada, N., McCutcheon, K., Nasir, J., Jamot, L., Li, X. J., Stevens, M. E., Rosemond, E., Roder, J. C., Phillips, A. G., Rubin, E. M., Hersch, S. M. & Hayden, M. R. (1999). *Neuron* **23**, 181-192.
- Holter, S. M., Stromberg, M., Kovalenko, M., Garrett, L., Glasl, L., Lopez, E., Guide, J., Gotz, A., Hans, W., Becker, L., Rathkolb, B., Rozman, J., Schrewed, A., Klingenspor, M., Klopstock, T., Schulz, H., Wolf, E., Wursta, W., Gillis, T., Wakimoto, H., Seidman, J., MacDonald, M. E., Cotman, S., Gailus-Durner, V., Fuchs, H., de Angelis, M. H., Lee, J. M. & Wheeler, V. C. (2013). *PLoS One* **8**, e80923.
- Hudspeth, A. J., Jessell, T. M., Kandel, E. R., Schwartz, J. H. & Siegelbaum, S. A. (2013). *Principles of neural science*.
- Hummel, T., Smitka, M., Puschmann, S., Gerber, J. C., Schaal, B. & Buschhuter, D. (2011). *Exp Brain Res* **214**, 285-291.
- Igarashi, K. M., Ieki, N., An, M., Yamaguchi, Y., Nagayama, S., Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Tanifuji, M., Sakano, H., Chen, W. R. & Mori, K. (2012). *J Neurosci* **32**, 7970-7985.

- Ikemoto, S. (2003). *J Neurosci* **23**, 9305-9311.
- Ikemoto, S. (2007). *Brain Res Rev* **56**, 27-78.
- Ikemoto, S., Qin, M. & Liu, Z. H. (2005). *J Neurosci* **25**, 5061-5065.
- Jansson, E. K., Clemens, L. E., Riess, O. & Nguyen, H. P. (2014). *PLoS One* **9**, e105662.
- Jiang, R. S., Chai, J. W., Chen, W. H., Fuh, W. B., Chiang, C. M. & Chen, C. C. (2009). *Am J Rhinol Allergy* **23**, 582-584.
- Johansson, C. B., Momma, S., Clarke, D. L., Risling, M., Lendahl, U. & Frisén, J. (1999). *Cell* **96**, 25-34.
- Kageyama, R., Imayoshi, I. & Sakamoto, M. (2012). *Behavioural brain research* **227**, 459-463.
- Kaplan, M. S., McNelly, N. A. & Hinds, J. W. (1985). *J Comp Neurol* **239**, 117-125.
- Katagiri, H., Pallotto, M., Nissant, A., Murray, K., Sassoè-Pognetto, M. & Lledo, P.-M. (2011). *Neural Syst. Circuits* **1**.
- Kehoe, P., Krawczak, M., Harper, P. S., Owen, M. J. & Jones, A. L. (1999). *J Med Genet* **36**, 108-111.
- Kelsch, W., Lin, C.-W. & Lois, C. (2008). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 16803-16808.
- Kelsch, W., Sim, S. & Lois, C. (2010). *Annual review of neuroscience* **33**, 131-149.
- Kempermann, G. (2012). *Nature Reviews Neuroscience* **13**, 727-736.
- Kempermann, G. (2014). *Cell* **156**, 870-871.
- Khoshnan, A., Ko, J., Watkin, E. E., Paige, L. A., Reinhart, P. H. & Patterson, P. H. (2004). *J Neurosci* **24**, 7999-8008.
- Kiechle, T., Dedeoglu, A., Kubilus, J., Kowall, N. W., Beal, M. F., Friedlander, R. M., Hersch, S. M. & Ferrante, R. J. (2002). *Neuromolecular medicine* **1**, 183-195.
- Kikuta, S., Fletcher, M. L., Homma, R., Yamasoba, T. & Nagayama, S. (2013). *Neuron* **77**, 1122-1135.
- Kim, M. J., Jo, D. G., Hong, G. S., Kim, B. J., Lai, M., Cho, D. H., Kim, K. W., Bandyopadhyay, A., Hong, Y. M., Kim, D. H., Cho, C., Liu, J. O., Snyder, S. H. & Jung, Y. K. (2002). *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 9870-9875.
- Kim, Y. J., Yi, Y., Sapp, E., Wang, Y., Cuiffo, B., Kegel, K. B., Qin, Z.-H., Aronin, N. & DiFiglia, M. (2001). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 12784-12789.
- Kirschenbaum, B., Nedergaard, M., Preuss, A., Barami, K., Fraser, R. A. & Goldman, S. A. (1994). *Cerebral Cortex* **4**, 576-589.
- Knoth, R., Singec, I., Ditter, M., Pantazis, G., Capetian, P., Meyer, R. P., Horvat, V., Volk, B. & Kempermann, G. (2010). *PLoS One* **5**, e8809.
- Kohl, Z., Kandasamy, M., Winner, B., Aigner, R., Gross, C., Couillard-Despres, S., Bogdahn, U., Aigner, L. & Winkler, J. (2007). *Brain research* **1155**, 24-33.
- Kohl, Z., Regensburger, M., Aigner, R., Kandasamy, M., Winner, B., Aigner, L. & Winkler, J. (2010). *BMC neuroscience* **11**, 114-2202-2211-2114.
- Kornack, D. R. & Rakic, P. (2001). *Science* **294**, 2127-2130.
- Kosaka, K., Aika, Y., Toida, K., Heizmann, C. W., Hunziker, W., Jacobowitz, D. M., Nagatsu, I., Streit, P., Visser, T. J. & Kosaka, T. (1995). *Neurosci Res* **23**, 73-88.
- Kremer, B., Weber, B. & Hayden, M. R. (1992). *Brain Pathol* **2**, 321-335.
- Kukekov, V., Laywell, E., Suslov, O., Davies, K., Scheffler, B., Thomas, L., O'brien, T., Kusakabe, M. & Steindler, D. (1999). *Experimental neurology* **156**, 333-344.

- Larsson, M., Lundin, A. & Robins Wahlin, T. B. (2006). *J Clin Exp Neuropsychol* **28**, 1373-1380.
- Lasker, A. G. & Zee, D. S. (1997). *Vision Res* **37**, 3639-3645.
- Lawrence, A. D., Hodges, J. R., Rosser, A. E., Kershaw, A., French-Constant, C., Rubinsztein, D. C., Robbins, T. W. & Sahakian, B. J. (1998). *Brain* **121** (Pt 7), 1329-1341.
- Lazarini, F. & Lledo, P.-M. (2011). *Trends in neurosciences* **34**, 20-30.
- Lazic, S. E., Goodman, A. O., Grote, H. E., Blakemore, C., Morton, A. J., Hannan, A. J., van Dellen, A. & Barker, R. A. (2007). *Brain Res* **1151**, 219-226.
- Leavitt, B. R., van Raamsdonk, J. M., Shehadeh, J., Fernandes, H., Murphy, Z., Graham, R. K., Wellington, C. L., Raymond, L. A. & Hayden, M. R. (2006). *J Neurochem* **96**, 1121-1129.
- Li, S.-H., Gutekunst, C.-A., Hersch, S. M. & Li, X.-J. (1998). *The Journal of neuroscience* **18**, 1261-1269.
- Li, S. H. & Li, X. J. (2004). *Trends Genet* **20**, 146-154.
- Li, W., Howard, J. D. & Gottfried, J. A. (2010). *Brain* **133**, 2714-2726.
- Liu, L., Orozco, I. J., Planel, E., Wen, Y., Bretteville, A., Krishnamurthy, P., Wang, L., Herman, M., Figueroa, H. & Yu, W. H. (2008). *Neurobiology of disease* **31**, 46-57.
- Liu, X., Kim, C. N., Pohl, J. & Wang, X. (1996). *J Biol Chem* **271**, 13371-13376.
- Liu, X., Zou, H., Slaughter, C. & Wang, X. (1997). *Cell* **89**, 175-184.
- Lledo, P.-M. & Gheusi, G. (2003). *Neuroreport* **14**, 1655-1663.
- Lledo, P. M., Alonso, M. & Grubb, M. S. (2006). *Nat Rev Neurosci* **7**, 179-193.
- Lobsiger, C. S. & Cleveland, D. W. (2007). *Nature neuroscience* **10**, 1355-1360.
- Lunkes, A., Lindenberg, K. S., Ben-Haiem, L., Weber, C., Devys, D., Landwehrmeyer, G. B., Mandel, J. L. & Trottier, Y. (2002). *Mol Cell* **10**, 259-269.
- Luskin, M. B. (1993). *Neuron* **11**, 173-189.
- MacDonald, M. E., Ambrose, C. M., Duyao, M. P., Myers, R. H., Lin, C., Srinidhi, L., Barnes, G., Taylor, S. A., James, M., Groot, N., MacFarlane, H., Jenkins, B., Anderson, M. A., Wexler, N. S., Gusella, J. F., Bates, G. P., Baxendale, S., Hummerich, H., Kirby, S., North, M., Youngman, S., Mott, R., Zehetner, G., Sedlacek, Z., Poustka, A., Frischauf, A.-M., Lehrach, H., Buckler, A. J., Church, D., Doucette-Stamm, L., O'Donovan, M. C., Riba-Ramirez, L., Shah, M., Stanton, V. P., Strobel, S. A., Draths, K. M., Wales, J. L., Dervan, P., Housman, D. E., Altherr, M., Shiang, R., Thompson, L., Fielder, T., Wasmuth, J. J., Tagle, D., Valdes, J., Elmer, L., Allard, M., Castilla, L., Swaroop, M., Blanchard, K., Collins, F. S., Snell, R., Holloway, T., Gillespie, K., Datson, N., Shaw, D. & Harper, P. S. (1993). *Cell* **72**, 971-983.
- Mandairon, N., Sacquet, J., Jourdan, F. & Didier, A. (2006). *Neuroscience* **141**, 443-451.
- Marsden, C. D. (1982). *Rinsho Shinkeigaku* **22**, 1093-1094.
- Mattson, M. P. (2000). *Nature reviews Molecular cell biology* **1**, 120-130.
- McGuire, J. R., Rong, J., Li, S. H. & Li, X. J. (2006). *J Biol Chem* **281**, 3552-3559.
- Menalled, L. B., Sison, J. D., Dragatsis, I., Zeitlin, S. & Chesselet, M. F. (2003a). *J Comp Neurol* **465**, 11-26.
- Menalled, L. B., Sison, J. D., Dragatsis, I., Zeitlin, S. & Chesselet, M. F. (2003b). *Journal of Comparative Neurology* **465**, 11-26.
- Menalled, L. B., Sison, J. D., Wu, Y., Olivieri, M., Li, X.-J., Li, H., Zeitlin, S. & Chesselet, M.-F. (2002). *Journal of Neuroscience* **22**, 8266-8276.

- Mende-Mueller, L. M., Toneff, T., Hwang, S. R., Chesselet, M. F. & Hook, V. Y. (2001). *J Neurosci* **21**, 1830-1837.
- Merkle, F. T., Mirzadeh, Z. & Alvarez-Buylla, A. (2007). *Science* **317**, 381-384.
- Meshulam, R. I., Moberg, P. J., Mahr, R. N. & Doty, R. L. (1998). *Archives of neurology* **55**, 84-90.
- Metzler, M., Gan, L., Mazarei, G., Graham, R. K., Liu, L., Bissada, N., Lu, G., Leavitt, B. R. & Hayden, M. R. (2010). *J Neurosci* **30**, 14318-14329.
- Millhouse, O. & Heimer, L. (1984). *Journal of Comparative Neurology* **228**, 571-597.
- Milnerwood, A. J., Gladding, C. M., Pouladi, M. A., Kaufman, A. M., Hines, R. M., Boyd, J. D., Ko, R. W., Vasuta, O. C., Graham, R. K., Hayden, M. R., Murphy, T. H. & Raymond, L. A. (2010). *Neuron* **65**, 178-190.
- Ming, G. L. & Song, H. (2011). *Neuron* **70**, 687-702.
- Miyata, M. & Smith, J. D. (1996). *Nat Genet* **14**, 55-61.
- Mo, C., Renoir, T. & Hannan, A. J. (2015). *Behav Brain Res* **276**, 17-27.
- Moberg, P. J. & Doty, R. L. (1997). *Int J Neurosci* **89**, 133-139.
- Möller, T. (2010). *Journal of neural transmission* **117**, 1001-1008.
- Mori, K. (1987). *Prog Neurobiol* **29**, 275-320.
- Mori, K. (2014). *The Olfactory System: From Odor Molecules to Motivational Behaviors*. Springer.
- Mori, K. & Sakano, H. (2011). *Annual review of neuroscience* **34**, 467-499.
- Morrison, P. J., Harding-Lester, S. & Bradley, A. (2011). *Clin Genet* **80**, 281-286.
- Mouret, A., Lepousez, G., Gras, J., Gabelle, M.-M. & Lledo, P.-M. (2009). *The Journal of Neuroscience* **29**, 12302-12314.
- Mullen, R. J., Buck, C. R. & Smith, A. M. (1992). *Development* **116**, 201-211.
- Nagayama, S., Takahashi, Y. K., Yoshihara, Y. & Mori, K. (2004). *Journal of neurophysiology* **91**, 2532-2540.
- Neville, K. R. & Haberly, L. B. (2004). *The synaptic organization of the brain* **5**, 415-454.
- Nguyen, H. H. P. & Nilsson, A. C. (2015). *Behavioral Neurobiology of Huntington's Disease and Parkinson's Disease*. Springer.
- Nibu, K., Kondo, K., Ohta, Y., Ishibashi, T., Rothstein, J. L. & Kaga, K. (2001). *Neuroreport* **12**, 1615-1619.
- Nikolaev, A., McLaughlin, T., O'Leary, D. D. & Tessier-Lavigne, M. (2009). *Nature* **457**, 981-989.
- Nordin, S., Paulsen, J. S. & Murphy, C. (1995). *J Int Neuropsychol Soc* **1**, 281-290.
- Novak, M. J., Seunarine, K. K., Gibbard, C. R., McColgan, P., Draganski, B., Friston, K., Clark, C. A. & Tabrizi, S. J. (2015). *Hum Brain Mapp* **36**, 1728-1740.
- Nunes, M. C., Roy, N. S., Keyoung, H. M., Goodman, R. R., McKhann, G., Jiang, L., Kang, J., Nedergaard, M. & Goldman, S. A. (2003). *Nature medicine* **9**, 439-447.
- Nwosu, I., Gairhe, S., Struble, R. G. & Nathan, B. P. (2008). *Neurosci Lett* **441**, 282-285.
- Ohsawa, S., Hamada, S., Asou, H., Kuida, K., Uchiyama, Y., Yoshida, H. & Miura, M. (2009). *The Journal of neuroscience* **29**, 11385-11392.
- Ohsawa, S., Hamada, S., Kuida, K., Yoshida, H., Igaki, T. & Miura, M. (2010). *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 13366-13371.
- Orona, E., Rainer, E. C. & Scott, J. W. (1984). *Journal of Comparative Neurology* **226**, 346-356.
- Palmer, T. D., Schwartz, P. H., Taupin, P., Kaspar, B., Stein, S. A. & Gage, F. H. (2001). *Nature* **411**, 42-43.

- Panegyres, P. K., Beilby, J., Bulsara, M., Toufexis, K. & Wong, C. (2006). *Eur Neurol* **55**, 189-192.
- Park, K. J., Grosso, C. A., Aubert, I., Kaplan, D. R. & Miller, F. D. (2010). *Nature neuroscience* **13**, 559-566.
- Parrish-Aungst, S., Shipley, M. T., Erdelyi, F., Szabo, G. & Puche, A. C. (2007). *J Comp Neurol* **501**, 825-836.
- Patassini, S., Begley, P., Reid, S. J., Xu, J., Church, S. J., Curtis, M., Dragunow, M., Waldvogel, H. J., Unwin, R. D. & Snell, R. G. (2015). *Biochemical and biophysical research communications* **468**, 161-166.
- Pedro-Botet, J., Senti, M., Nogues, X., Rubies-Prat, J., Roquer, J., D'Olhaberriague, L. & Olive, J. (1992). *Stroke* **23**, 1556-1562.
- Perry, T. L., Hansen, S. & Kloster, M. (1973). *N Engl J Med* **288**, 337-342.
- Petreanu, L. & Alvarez-Buylla, A. (2002). *The Journal of neuroscience* **22**, 6106-6113.
- Phillips, M. E., Sachdev, R. N., Willhite, D. C. & Shepherd, G. M. (2012). *The Journal of Neuroscience* **32**, 85-98.
- Podlessek, D., Leimert, M., Schuster, B., Gerber, J., Schackert, G., Kirsch, M. & Hummel, T. (2012). *Neuroradiology* **54**, 1229-1233.
- Politis, M., Lahiri, N., Niccolini, F., Su, P., Wu, K., Giannetti, P., Scahill, R. I., Turkheimer, F. E., Tabrizi, S. J. & Piccini, P. (2015). *Neurobiol Dis* **83**, 115-121.
- Pouladi, M. A., Graham, R. K., Karasinska, J. M., Xie, Y., Santos, R. D., Petersen, A. & Hayden, M. R. (2009). *Brain* **132**, 919-932.
- Pouladi, M. A., Morton, A. J. & Hayden, M. R. (2013). *Nature reviews Neuroscience* **14**, 708-721.
- Pouladi, M. A., Stanek, L. M., Xie, Y., Franciosi, S., Southwell, A. L., Deng, Y., Butland, S., Zhang, W., Cheng, S. H. & Shihabuddin, L. S. (2012). *Human molecular genetics*, dds037.
- Price, J. L. (1985). *Chemical Senses* **10**, 239-258.
- Ransohoff, R. M. & Perry, V. H. (2009). *Annual review of immunology* **27**, 119-145.
- Rigamonti, D., Sipione, S., Goffredo, D., Zuccato, C., Fossale, E. & Cattaneo, E. (2001). *J Biol Chem* **276**, 14545-14548.
- Rocheffort, C., Gheusi, G., Vincent, J.-D. & Lledo, P.-M. (2002). *The Journal of neuroscience* **22**, 2679-2689.
- Rogers, J. (2008). *Journal of periodontology* **79**, 1535-1543.
- Rombaux, P., Duprez, T. & Hummel, T. (2009). *Rhinology* **47**, 3-9.
- Rosas, H. D., Koroshetz, W. J., Chen, Y. I., Skeuse, C., Vangel, M., Cudkowicz, M. E., Caplan, K., Marek, K., Seidman, L. J., Makris, N., Jenkins, B. G. & Goldstein, J. M. (2003). *Neurology* **60**, 1615-1620.
- Ross, C. A., Aylward, E. H., Wild, E. J., Langbehn, D. R., Long, J. D., Warner, J. H., Scahill, R. I., Leavitt, B. R., Stout, J. C., Paulsen, J. S., Reilmann, R., Unschuld, P. G., Wexler, A., Margolis, R. L. & Tabrizi, S. J. (2014). *Nat Rev Neurol* **10**, 204-216.
- Ross, C. A. & Tabrizi, S. J. (2011). *The Lancet Neurology* **10**, 83-98.
- Saghatelian, A., Roux, P., Migliore, M., Rocheffort, C., Desmaisons, D., Charneau, P., Shepherd, G. M. & Lledo, P.-M. (2005). *Neuron* **46**, 103-116.
- Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R. A., Mirzadeh, Z., Tsai, H. H., Wong, M., Gupta, N., Berger, M. S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J. M., Rowitch, D. H. & Alvarez-Buylla, A. (2011). *Nature* **478**, 382-386.

- Sanai, N., Tramontin, A. D., Quiñones-Hinojosa, A., Barbaro, N. M., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, M. T., McDermott, M. W., Parsa, A. T. & Verdugo, J. M.-G. (2004). *Nature* **427**, 740-744.
- Saudou, F., Finkbeiner, S., Devys, D. & Greenberg, M. E. (1998). *Cell* **95**, 55-66.
- Sawada, M., Kaneko, N., Inada, H., Wake, H., Kato, Y., Yanagawa, Y., Kobayashi, K., Nemoto, T., Nabekura, J. & Sawamoto, K. (2011). *The Journal of Neuroscience* **31**, 11587-11596.
- Schoenmann, Z., Assa-Kunik, E., Tiomny, S., Minis, A., Haklai-Topper, L., Arama, E. & Yaron, A. (2010). *The Journal of neuroscience* **30**, 6375-6386.
- Sen, A., Nelson, T. J. & Alkon, D. L. (2017). *Molecular brain* **10**, 19.
- Serby, M. (1986). *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **10**, 579-586.
- Shepherd, G. M., Chen, W. & Greer, C. (2004). *The synaptic organization of the brain*. Oxford University Press New York.
- Shikama, Y. & Yamada, M. (2001). *Cell death and differentiation* **8**, 377-386.
- Simmons, D. A., Casale, M., Alcon, B., Pham, N., Narayan, N. & Lynch, G. (2007). *Glia* **55**, 1074-1084.
- Simpson, J. M., Gil-Mohapel, J., Pouladi, M. A., Ghilan, M., Xie, Y., Hayden, M. R. & Christie, B. R. (2011). *Neurobiology of disease* **41**, 249-260.
- Sistonen, J., Madadi, P., Ross, C. J., Yazdanpanah, M., Lee, J. W., Landsmeer, M. L., Nauta, M., Carleton, B. C., Koren, G. & Hayden, M. R. (2012). *Clinical pharmacology and therapeutics* **91**, 692-699.
- Slee, E. A., Harte, M. T., Kluck, R. M., Wolf, B. B., Casiano, C. A., Newmeyer, D. D., Wang, H.-G., Reed, J. C., Nicholson, D. W. & Alnemri, E. S. (1999). *The Journal of cell biology* **144**, 281-292.
- Slow, E. J., van Raamsdonk, J., Rogers, D., Coleman, S. H., Graham, R. K., Deng, Y., Oh, R., Bissada, N., Hossain, S. M., Yang, Y. Z., Li, X. J., Simpson, E. M., Gutekunst, C. A., Leavitt, B. R. & Hayden, M. R. (2003). *Hum Mol Genet* **12**, 1555-1567.
- Spalding, K. L., Bergmann, O., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Huttner, H. B., Bostrom, E., Westerlund, I., Vial, C., Buchholz, B. A., Possnert, G., Mash, D. C., Druid, H. & Frisen, J. (2013). *Cell* **153**, 1219-1227.
- Streit, W. J. (2002). *Glia* **40**, 133-139.
- Switzer, R. C., 3rd, Hill, J. & Heimer, L. (1982). *Neuroscience* **7**, 1891-1904.
- Tabrizi, S. J., Langbehn, D. R., Leavitt, B. R., Roos, R. A., Durr, A., Craufurd, D., Kennard, C., Hicks, S. L., Fox, N. C., Scahill, R. I., Borowsky, B., Tobin, A. J., Rosas, H. D., Johnson, H., Reilmann, R., Landwehrmeyer, B., Stout, J. C. & investigators, T.-H. (2009). *Lancet neurology* **8**, 791-801.
- Tai, Y. F., Pavese, N., Gerhard, A., Tabrizi, S. J., Barker, R. A., Brooks, D. J. & Piccini, P. (2007). *Brain* **130**, 1759-1766.
- Tatton, N. A. (2000). *Experimental neurology* **166**, 29-43.
- Thomann, P. A., Dos Santos, V., Seidl, U., Toro, P., Essig, M. & Schroder, J. (2009). *J Alzheimers Dis* **17**, 213-221.
- Tolar, M., Keller, J. N., Chan, S., Mattson, M. P., Marques, M. A. & Crutcher, K. A. (1999). *J Neurosci* **19**, 7100-7110.
- Trottier, Y., Lutz, Y., Stevanin, G., Imbert, G., Devys, D., Cancel, G., Saudou, F., Weber, C., David, G., Tora, L. & et al. (1995). *Nature* **378**, 403-406.

- Turetsky, B. I., Moberg, P. J., Yousem, D. M., Doty, R. L., Arnold, S. E. & Gur, R. E. (2000). *Am J Psychiatry* **157**, 828-830.
- Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Huntington Study Group* (1996). **11**, 136-142.
- van Dijk, J. G., van der Velde, E. A., Roos, R. A. & Bruyn, G. W. (1986). *Hum Genet* **73**, 235-239.
- Van Raamsdonk, J. M., Murphy, Z., Slow, E. J., Leavitt, B. R. & Hayden, M. R. (2005). *Hum Mol Genet* **14**, 3823-3835.
- Van Raamsdonk, J. M., Pearson, J., Rogers, D. A., Bissada, N., Vogl, A. W., Hayden, M. R. & Leavitt, B. R. (2005). *Hum Mol Genet* **14**, 1379-1392.
- Van Raamsdonk, J. M., Pearson, J., Slow, E. J., Hossain, S. M., Leavitt, B. R. & Hayden, M. R. (2005). *J Neurosci* **25**, 4169-4180.
- van Rossum, D. & Hanisch, U.-K. (2004). *Metabolic brain disease* **19**, 393-411.
- Venero, J. L., Burguillos, M. A. & Joseph, B. (2013). *Developmental neuroscience* **35**, 88-101.
- von Hörsten, S., Schmitt, I., Nguyen, H. P., Holzmann, C., Schmidt, T., Walther, T., Bader, M., Pabst, R., Kobbe, P. & Krotova, J. (2003). *Human molecular genetics* **12**, 617-624.
- Vonsattel, J. P., Myers, R. H., Stevens, T. J., Ferrante, R. J., Bird, E. D. & Richardson, E. P., Jr. (1985). *J Neuropathol Exp Neurol* **44**, 559-577.
- Wang, C., Wilson, W. A., Moore, S. D., Mace, B. E., Maeda, N., Schmechel, D. E. & Sullivan, P. M. (2005). *Neurobiol Dis* **18**, 390-398.
- Watkins, L. H., Rogers, R. D., Lawrence, A. D., Sahakian, B. J., Rosser, A. E. & Robbins, T. W. (2000). *Neuropsychologia* **38**, 1112-1125.
- Wellington, C. L., Ellerby, L. M., Gutekunst, C.-A., Rogers, D., Warby, S., Graham, R. K., Loubser, O., van Raamsdonk, J., Singaraja, R. & Yang, Y.-Z. (2002). *The Journal of neuroscience* **22**, 7862-7872.
- Wellington, C. L., Ellerby, L. M., Hackam, A. S., Margolis, R. L., Trifiro, M. A., Singaraja, R., McCutcheon, K., Salvesen, G. S., Propp, S. S., Bromm, M., Rowland, K. J., Zhang, T., Rasper, D., Roy, S., Thornberry, N., Pinsky, L., Kakizuka, A., Ross, C. A., Nicholson, D. W., Bredesen, D. E. & Hayden, M. R. (1998). *J Biol Chem* **273**, 9158-9167.
- Wellington, C. L., Singaraja, R., Ellerby, L., Savill, J., Roy, S., Leavitt, B., Cattaneo, E., Hackam, A., Sharp, A., Thornberry, N., Nicholson, D. W., Bredesen, D. E. & Hayden, M. R. (2000). *J Biol Chem* **275**, 19831-19838.
- Wesson, D. W., Levy, E., Nixon, R. A. & Wilson, D. A. (2010). *The journal of Neuroscience* **30**, 505-514.
- Wheeler, V. C., Auerbach, W., White, J. K., Srinidhi, J., Auerbach, A., Ryan, A., Duyao, M. P., Vrbanc, V., Weaver, M. & Gusella, J. F. (1999). *Human molecular genetics* **8**, 115-122.
- White, J. K., Auerbach, W., Duyao, M. P., Vonsattel, J.-P., Gusella, J. F., Joyner, A. L. & MacDonald, M. E. (1997a). *Nature genetics* **17**, 404-410.
- White, J. K., Auerbach, W., Duyao, M. P., Vonsattel, J. P., Gusella, J. F., Joyner, A. L. & MacDonald, M. E. (1997b). *Nat Genet* **17**, 404-410.
- Whitman, M. C. & Greer, C. A. (2007). *The Journal of Neuroscience* **27**, 9951-9961.
- Whitman, M. C. & Greer, C. A. (2009). *Prog Neurobiol* **89**, 162-175.
- Willke, R. J., Burke, L. B. & Erickson, P. (2004). *Control Clin Trials* **25**, 535-552.

- Wilson, D. A. & Sullivan, R. M. (2011). *Neuron* **72**, 506-519.
- Winner, B., Cooper-Kuhn, C. M., Aigner, R., Winkler, J. & Kuhn, H. G. (2002). *European Journal of Neuroscience* **16**, 1681-1689.
- Würtle, M. L., Laussmann, M. A. & Rehm, M. (2012). *Experimental cell research* **318**, 1213-1220.
- Wyart, C., Webster, W. W., Chen, J. H., Wilson, S. R., McClary, A., Khan, R. M. & Sobel, N. (2007). *J Neurosci* **27**, 1261-1265.
- Xanthoudakis, S., Roy, S., Rasper, D., Hennessey, T., Aubin, Y., Cassady, R., Tawa, P., Ruel, R., Rosen, A. & Nicholson, D. W. (1999). *EMBO J* **18**, 2049-2056.
- Yamada, M., Iwatsubo, T., Mizuno, Y. & Mochizuki, H. (2004). *Journal of neurochemistry* **91**, 451-461.
- Yamaguchi, M. & Mori, K. (2005). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 9697-9702.
- Yang, M. & Crawley, J. N. (2009). *Curr Protoc Neurosci* **Chapter 8**, Unit 8 24.
- Young, A. B., Greenamyre, J. T., Hollingsworth, Z., Albin, R., D'Amato, C., Shoulson, I. & Penney, J. B. (1988). *Science* **241**, 981-983.
- Young, K. M., Fogarty, M., Kessaris, N. & Richardson, W. D. (2007). *J Neurosci* **27**, 8286-8296.
- Yousem, D. M., Williams, S. C., Howard, R. O., Andrew, C., Simmons, A., Allin, M., Geckle, R. J., Suskind, D., Bullmore, E. T., Brammer, M. J. & Doty, R. L. (1997). *Radiology* **204**, 833-838.
- Yu-Taeger, L., Petrasch-Parwez, E., Osmand, A. P., Redensek, A., Metzger, S., Clemens, L. E., Park, L., Howland, D., Calaminus, C., Gu, X., Pichler, B., Yang, X. W., Riess, O. & Nguyen, H. P. (2012). *J Neurosci* **32**, 15426-15438.
- Zhang, J., Peng, Q., Li, Q., Jahanshad, N., Hou, Z., Jiang, M., Masuda, N., Langbehn, D. R., Miller, M. I., Mori, S., Ross, C. A. & Duan, W. (2010). *NeuroImage* **49**, 2340-2351.
- Zhang, Y., Leavitt, B. R., van Raamsdonk, J. M., Dragatsis, I., Goldowitz, D., MacDonald, M. E., Hayden, M. R. & Friedlander, R. M. (2006). *EMBO J* **25**, 5896-5906.
- Zhang, Y., Li, M., Drozda, M., Chen, M., Ren, S., Mejia Sanchez, R. O., Leavitt, B. R., Cattaneo, E., Ferrante, R. J., Hayden, M. R. & Friedlander, R. M. (2003). *J Neurochem* **87**, 101-106.
- Zuccato, C., Tartari, M., Crotti, A., Goffredo, D., Valenza, M., Conti, L., Cataudella, T., Leavitt, B. R., Hayden, M. R., Timmusk, T., Rigamonti, D. & Cattaneo, E. (2003). *Nat Genet* **35**, 76-83.
- Zuccato, C., Valenza, M. & Cattaneo, E. (2010). *Physiol Rev* **90**, 905-981.